

UNDERSØGELSER
OVER
GONOKOKTYPER
OG
GONOKOKIMMUNSER
(WITH AN ENGLISH SUMMARY)

AF
ERIK VOLLMOND



LEVIN OG MUNKSGAARDS FORLAG
KØBENHAVN MCMXXIII

UNDERSØGELSER
OVER
GONOKOKTYPER OG GONOKOKIMMUNSER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A/S Oscar Fraenckel & Co.

https://archive.org/details/IA40153513_0059

UNDERSØGELSER
OVER
GONOKOKTYPER
OG
GONOKOKIMMUNSER
(WITH AN ENGLISH SUMMARY)

AF
ERIK VOLLMOND



LEVIN OG MUNKSGAARDS FORLAG
KØBENHAVN MCMXXIII

Denne Afhandling er af det lægevidenskabelige Fakultet antagen til offentlig at forsvares for den medicinske Doktorgrad.

København, den 6. April 1923.

L. S. Fridericia.

f. T. Dekanus.

INDHOLDSFORTEGNELSE

<i>Forord.</i>	Side
<i>Indledning</i>	9
I. Oversigt over Udviklingen af Gonokokundersøgelserne i forrige Aarhundrede.	
II. Adskillelse af Gonokokker fra nærstaaende Mikrober.	
<i>Serologiske Undersøgelser</i>	26
I. Agglutininier.	
II. Komplementbindende Antistoffer.	
III. Egne indledende Undersøgelser over Forekomsten af Antistof i Sera fra gonokokinficerede Patienter.	
<i>Bakterietyper</i>	37
I. Almindelig Oversigt.	
<i>Gonokokimmunsera</i>	40
I. Fremstilling.	
II. Undersøgelse af Immunsera ved direkte Agglutinationsforsøg.	
III. Undersøgelse af Immunsera ved direkte Komplementbindingsforsøg.	
<i>Absorptionsforsøgene</i>	55
I. Uddifferentiering af Agglutininier.	
II. Betragtninger vedrørende Antistofferne i de fremstillede Immunsera.	
III. Absorption af det komplementbindende Antistof.	
IV. Valg af Methode til Typebestemmelse af Gonokokker.	
V. Forf.'s Teknik til Typebestemmelserne.	
<i>Gonokoktyper</i>	85
I. Type I, II og III — og Stammer udenfor Typerne.	
II. Betragtninger vedrørende »Slægtskabet« mellem Gonokokstammer af samme Type.	
III. »Atypiske« Stammer.	
IV. Ændring af Teknik til Typebestemmelser.	
V. Findes Gonokokker af forskellige Typer hos samme Patient? — og er Typen konstant?	

<i>Amerikanske Typeundersøgelser</i>	118
<i>Fortsatte Undersøgelser over Gonokoktyperne</i>	122
I. Fordelingen af Stammerne indenfor Typerne. (»Tvetyper«, »Tretyper«.)	
II. »Rensning« af Immunsera.	
III. Undersøgelse af Immunstofindholdet i det »omvendt specifikke« Serum.	
IV. Betragtninger vedrørende »Slægtskabet« mellem Gonokokstammer af forskellige Typer.	
V. Forsøg paa Typebestemmelse uden Rendyrkning.	
<i>Dyrkning af Gonokokker</i>	136
I. Gonokokstammernes forskellige Resistens og Vækstkrav — og disse Egenskabers Afhængighed af Typepræget.	
II. Egne Dyrkningsforsøg. (Leucocyternes baktericide Virkning. Brintjonkoncentrationens Betydning.)	
III. Nogle nyere Substrater til Gonokokdyrkning, — og Forsøg paa Forbedring af de ydre Vilkaar, hvorunder Gonokokkerne udvikles in vitro. (Iltspænding, Fugtighed, Temperatur.) Simpel Methode til Rensning af en »inficeret« Gonokokkultur.	
<i>Udvidede Undersøgelser</i>	155
I. Materialet.	
II. Patientsera.	
<i>Slutning</i>	159
I. Det kliniske Forløbs Afhængighed af Gonokoktypen.	
<i>Investigations on Gonococcus Types and Gonococcus Immune-sera (Summary)</i>	163
<i>Litteraturfortegnelse</i>	179

FORORD.

I Kampen mod den sørgelige Udbredelse af de gonorrhøiske Infektioner, der — blandt saa mange andre Ulykker — fulgte i Verdenskrigens Kølvan, er der alt, baade fra den praktiske Lægevidenskab og fra de bakteriologiske Laboratorier, nedlagt et meget betydeligt Arbejde, hvis glædelige Resultater man begynder at spore gennem det sidste Aars statistiske Beretninger.

Det er som Led i dette Arbejde, at nærværende Afhandling fremkommer.

Undersøgelserne paabegyndte jeg paa Statens Seruminstitut i Efteraaret 1919 i Samarbejde med daværende Afdelingsforstander, Dr. OLUF THOMSEN. En foreløbig Meddelelse derom gav vi i:

Hospitalstidende Nr. 44, 1920,

Comptes rendus de la Société de Biologie. No. 6, 1921 og
Acta medica scandinavica Bd. 57, No. 1 1922.

Siden 1920 fortsatte jeg paa egen Haand, en Tidlang paa Serum institutet, men for Størstedelen af Arbejdets Vedkommende paa Universitetets Institut for almindelig Pathologi, hvor jeg afsluttede Undersøgelserne for ca. 1 Aar siden.

Naar Resultaterne først offentliggøres nu, maa dette tilskrives, at jeg — efter Direktør Dr. TH. MADSENS Opfordring — vendte tilbage til Serum institutet, hvor Undersøgel-

ser vedrørende de internationale Meningokoktyper i Forbindelse med Seruminstitutets daglige Arbejde lagde saa stærkt Beslag paa min Tid, at jeg saa mig nødsaget til i ca. et halvt Aar, at henlægge dette Arbejde.

Som Bakteriolog, men uden Specialkendskab til de paa-gældende Infektioners Klinik har jeg ikke villet beskæftige mig med den kliniske Side af de foreliggende Spørgsmaal udover, at jeg har søgt gennem Konference med Klinikerne at danne mig et Indtryk af Afhængigheden mellem Gono-koktype og Infektionsbillede.

Afhandlingen fremkommer derfor i alt væsentligt som en bakteriologisk-serologisk Studie over det NEISSER'ske Virus, — en Række Undersøgelser, der forhaabentlig paa enkelte Punkter udvider vort Kendskab til den saa udbredte Mikrob.

Det er mit Haab, at Undersøgelserne ogsaa maa aabne nye Veje for Klinikerne, og at de derigennem maa bringe et, — om ogsaa kun lille og indirekte — Bidrag til Kampen mod disse samfundsfarlige Infektioner.

Jeg beder min Lærer Professor OLUF THOMSEN modtage min hjerteligste Tak for den Interesse, hvormed han stadig har fulgt mine Undersøgelser, for de udmærkede Arbejdsvilkaar, som Professoren altid har skaffet mig, og for de mange Timer som han gennem Aarene har ofret paa at diskutere disse og mange andre Problemer med mig.

Min Tak gælder dernæst min Chef, Seruminstitutets Direktør, Dr. TH. MADSEN, der med den største Gæstfrihed stillede Institutets Laboratorier og Midler til min Disposition baade i den Tid, da jeg arbejdede som Gæst ved Institutet og nu, da jeg er fast knyttet dertil.

Uden stor Imødekommenhed og Hjælp fra Klinikernes Side havde det næppe været mig muligt at gennemføre mine Undersøgelser, og jeg maa da med Taknemmelighed mindes afdøde Overlæge EDV. RAVN, der gennem lange Tider ydede mig Bistand ved Indsamling af Materialet og altid med stor Interesse fulgte mit Arbejde.

Mine Kolleger Dr. BOAS og Dr. LOMHOLT takker jeg for venlig Hjælpsomhed, Professorerne RASCH og EHLERS og Overlægerne JERSILD og BRØNNUM for det Materiale, som jeg har modtaget til Undersøgelse fra deres respektive Hospitalsafdelinger, og endelig beder jeg Lektor VILH. JENSEN modtage min bedste Tak for forskellig Vejledning og for Hjælp ved Mikrofotograferingerne.

København i December 1922.

E. V

INDLEDNING.

I. Historisk Oversigt.

Naar den kendte franske Forsker *Donné* i sit store mikrobiologiske Værk fra 1837 skriver: »*Les globules de pus (blennorrhagique) nagent dans un liquide, qui ne contient pas d'autres particules appreciables au microscope*«, og naar han i et senere Arbejde fra 1844 tilføjer: »*Le pus de la blennorrhagie urétrale ou vaginale ne diffère en rien au microscope du pus d'un phlegmon ordinaire*«, saa forbaavses man ved alligevel Gang paa Gang at se ham citeret, som en af de første Forskere, der har set det specifikt gonorrhøiske Virus. Thi efter disse *Donnés* egne Ord, maa det betragtes som givet, at hverken han eller nogen anden Forsker endnu saa sent som omkring Midten af forrige Aarhundrede havde Kendskab til Ætiologien ved de gonorrhøiske Betændelser — og det til Trods for, at disse Betændelser havde været kendt og beskrevet allerede langt tilbage i Oldtiden, og at man allerede da næppe nærede nogen Tvivl om deres Kontagiøsitet.

Fra Tidernes Morgen havde man dannet sig Forestillingen om et »Giftstof« som Aarsag til disse Lidelser, men da saa de hidtil ukendte syfilitiske Betændelser i det 15. Aarhundrede rasede over Europa, forvirredes Begreberne ganske, thi fra nu af tilskrev man et og samme ukendte »Giftstof«

Aarsagen til alle de saakaldte »*morbi venerii*«. Gennem flere Aarhundreder holdt denne Forvirring sig. Først omkring Aar 1835 lykkedes det *Ricord* at fastslaa, at Syfilis og Gonorrhoe var 2 forskellige Sygdomme, der fremkaldtes af hver sin eller sine Aarsager.

Ricord opstillede en Teori, der gik ud paa, at »det syfilitiske Giftstof« var »virulent«, medens Gonorrhoe var en »avirulent«, simpel og godartet Katarrh, der kunde fremkaldes af en Række forskellige Irritamenter. I de følgende Decennier blev Teorien kraftigt imødegaaet fra forskellige Sider, men der skulde dog forløbe et halvt Aarhundrede, inden Striden om dens Rigtighed blev saa nogenlunde bilagt.

I Aarene, der paafulgte *Donnés* efter Datidens Forhold særdeles smukke Arbejde, fremkom en lang Række mindre kendte Undersøgelser over det gonorrhøiske Smitstof, Arbejder, der alle i vore Dage kun har historisk Interesse.

I 1862 beskrev saaledes den franske Læge *Jousseau* en »*algue speciale a la blennorrhagie*«. Han gav en ret fantastisk Beskrivelse af sin »*algue*«, en Beskrivelse, som kun er lidet overensstemmende med vor nuværende Forestilling om det gonorrhøiske Virus. Dersom *Jousseau* altsaa, hvad en Del senere Skribenter angiver, virkelig har set det gonorrhøiske Virus, saa har han i hvert Fald ikke formaaet at beskrive det Billede, han har set.

I 1873 skrev derimod en anden fransk Læge, *Salisbury* i »*Gazette médicale de Lyon*«, at han i det gonorrhøiske Pus fandt: »*des spores très ténues et bien délimitées qu'on trouve par 2 ou 4 pendant le travail de segmentation double. Elles naissent et se développent rapidement dans et sur les cellules mères de la muqueuse affectée*«. Og endog Aaret forud for *Salisbury* — i 1872 — meddelte den tyske Forsker *Hallier* fra Jena, at han i det gonorrhøiske Pus fandt »en Mængde

Diplococcer« dels frie dels liggende inden i Blodlegemerne, hvor de danner Vacuoler og destruerer Cellerne.

Efter disse omhyggelige Beskrivelser, der Ord til andet stemmer med vor nuværende Forestilling om det gonorrhøiske Virus, kan der næppe være nogen Tvivl om, at baade Hallier og Salisbury har set det. Deres Meddelelser derom vakte imidlertid ingen Opmærksomhed, og snart laa deres i Virkeligheden saa betydningsfulde Arbejder begravet i de medicinske Tidsskriftarkiver — skjult bag et Glemslens Slør.

Med Weigert's og Rob. Koch's geniale Forbedringer af de bakteriologiske Undersøgelsesmetoder kom der saa i Halvfjerterne stærkt Liv over de bakteriologiske Undersøgelser, og i Juni 1879 stod der i »Centralblatt für d. med. Wissenschaften« en kortfattet Meddelelse af A. Neisser fra Breslau: »Ueber eine der Gonorrhoe eigentümliche Micrococcusform«, en Meddelelse, hvori han beskriver nogle typisk formede Kokker, som han konstant finder i Pusset fra Patienter med gonorrhøiske Betændelser og kun hos saadanne Patienter. Han kalder det fundne Virus »Gonokokkus«.

Neissers Meddelelse gav snart Genlyd i Fagpressen, og de følgende Aar fandt den Bekræftelse fra talrige Sider.

Det vilde føre for vidt her at nævne alle de Forskere, der paa forskellig Vis har bidraget dertil, men Navne som Bokai & Finkelstein, Leistikow og Bockhart bør dog erindres, idet deres Undersøgelser af Patienterne, deres indledende Dyrkningsforsøg og deres omend usikre Indpodninger af det formodet specifikke Virus paa Mennesker og Dyr danner Forbilledet for den Skare af Forskere, som siden og endnu den Dag i Dag beskæftiger sig med Undersøgelser over Gonokokker og Gonokokinfektion.

Som det vil ses, var der 3 Veje, ad hvilke man straks søgte Oplysninger om det ny Virus:

- 1) Undersøgelse af Sekreter fra Patienter,
- 2) Dyrkning af det formodede specifikke Virus, og
- 3) Indpodning paa Dyr.

Vil man i korte Træk følge Udviklingen af hver af disse Retninger, saa forelaa der allerede i Midten af Firserne en lang Række Undersøgelser over Gonokokkens Forekomst i Sekreter fra gonorrhøiske Patienter, Undersøgelser, der for det overvejende Flertals Vedkommende bekræftede Gonokokkens Tilstedeværelse i disse og sandsynliggjorde dens ætiologiske Betydning. *Finger* undersøgte saaledes et meget stort Antal Patienter, fandt »saa godt som« altid Gonokokker og i de Tilfælde, hvor det ikke lykkedes ham at paavise dem, mente han ikke at turde udelukke Muligheden af, at de fandtes alligevel. — Og her i Norden bør vi med særlig Veneration mindes *Welanders* fortrinlige Arbejde, der allerede i Firserne med næsten uigendrivelig Sikkerhed fastslog Gonokokkens Betydning for de gonorrhøiske Infektioner.

Hvad Dyrkningen angaar, saa støder man ligeledes i Begyndelsen af Firserne paa et Utal af Navne, der er knyttet til Dyrkningsforsøg med Gonokokker, *Bouchard & Capitan*, *Arning*, *Kreis* o. m. a.

For de fleste af disse Dyrkninger, maaske for samtlige, tør man dog vist nok gaa ud fra, at den Mikrob, som vedkommende Forsker har formodet at dyrke, ikke har været Gonokokker — i hvert Fald ikke i Renkultur.

Største Delen af disse tidlige Meddelelser, som f. Eks. *Kreis's*, der i 1883 oplyser, at »Gonokokker vokser godt paa almindelig Agar ved 48°«, har nu kun bevaret den rent historiske Interesse.

Den første, der med Sikkerhed har rendyrket Gonokok-

ker, var *Bumm*, og hans Meddelelse derom fremkom i 1885. Som Substrat prøvede han først uden Held den af *Fehleisen* anbefalede Kodinfuspeptongelatine, men senere lykkedes Dyrkningen paa det af *Fürbringer* angivne Placentarblodserum, efter at han samtidig havde afkølet sin Termostat fra 37°—39°, ned til 34°—37°. Efter 3. Omsaaning af sin Kultur, inficerede han en sund Kvinde dermed, og da den hos hende fremkaldte en typisk Gonorrhoe, kan Ægtheden af Kulturen næppe drages i Tvivl.

Men Forfatteren oplyser selv, at Gonokokkens Vækst paa det omtalte Substrat var saare sparsom, hvorfor store Kræfter udfoldedes til dets Forbedring.

Den første virkelige Forbedring kom imidlertid først i 1891, da *Wertheim* anbefalede Dyrkning paa Serumagar, (hvor i Agaren viste sig som en værdifuld Forbedring af det tidligere benyttede stivnede Serum). I det følgende Aar anbefalede *Steinschneider* Anvendelse af Hydrocele-vædske i Stedet for Blodserum. 1893 foreslog *Menge* Ovariecyste- eller Hydrosalpinx-vædske, og 1896 anbefalede *Kiefer* Ascites- og Hydrothorax-vædske tilsat peptonholdige Agarsubstrater, alt, som Erstatningsmidler for det menneskelige Blodserum, hvis Fremskaffelse i store Mængder var forbundet med nogen Vanskelighed, og som, efter *Bumms* Meddelelse, var en absolut Betingelse for Dyrkning af den *Neisser'ske* Gonokok. Som en ogsaa i teknisk Henseende væsentlig Forbedring lærte endelig *Young* os at benytte den ursterile Ascites-vædske.

Man finder altsaa blandt de tidligste Dyrkere af Gonokokker en blind Tillid til et af *Neisser* fremstillet Dogme: »*Alles was auf gewöhnlichem Agar wächst, sind sicher keine Gonokokken*« kombineret med det af *Bumm* opstillede Postulat om den nødvendige Tilstedeværelse af Menneskeæggehvide i Substrater til Dyrkning af Gonokokker.

Utallige Substrater blev med mere eller mindre — navnlig mindre — Held lanceret i de følgende Aar.

Stross foretog sammenlignende Undersøgelser over Anvendeligheden af Menneskesera og forskellige Dyresera, og han kom til det Resultat, at de sidstnævnte var uanvendelige til Erstatning af Menneskeæggehvide i Substraterne. Hans Resultat blev imidlertid meget snart modsagt af *Finger, Ghon & Schlagenhauser*, som i 1894 offentliggjorde en Række Undersøgelser, hvori de meddelte at have fundet alle Sera lige anvendelige til det paagældende Formaål. De anbefalede Anvendelse af »sure Substrater« til Gonokokdyrkning og mente med Held at kunne erstatte Serum med — »sur Urin«. Samme Aar meddelte Spanieren *Turro*, at »ublandet steril Urin« var et særdeles godt Substrat til Dyrkning af Gonokokker. (I ingen af disse Meddelelser findes Oplysninger om Resultatet ved Indpodning af det dyrkede Virus paa Mennesker, saa om det har været Gonokokker, man har arbejdet med, er vist mere end tvivlsomt).

Ogsaa *Picker, Urbahn* og *See* benægtede Nødvendigheden af Menneskeserum i Substrater til Dyrkning af Gonokokker. Sidstnævnte angav saaledes i Kaninblodagar at have fremstillet »*un milieu superieur à tous les autres*«. *Wassermann* anbefalede i 1898 Svineserum-Nutroseagar. *Watabiki* fremsatte paany Kravet om Menneskeæggehvide, *Abel* anbefalede *Pfeiffers* Blodagar, — og frem og tilbage svinger Paastand mod Paastand.

I Aaret 1900 mente *Thalmann* at kunne fastslaa, at de genuine Æggehvidestoffer og Serumæggehvide i det hele taget er ganske overflødige, og at almindelig Kødandsagar fuldt ud tilfredsstiller Gonokokkernes Krav. »*Der einzige Kunstgriff liegt in der Einhaltung einer bestimmten Reaktion*«, udtalte han. Han angav som et biologisk Særkende for

Gonokokken iblandt de andre pyogene Mikrober, at den kun voksede ved en ganske bestemt Reaktion.

Fra forskellige Sider bekræftedes hans Undersøgelser, saaledes af *Brongersma & van de Velde*, af *Picker, Urbahn, Wildbolz, Vannod* og *Martin*, men Modsigelserne myldrede frem i samme Antal bl. a. fra *Baermann, Rotmann, Alfvén* og *Jackstedt*.

Og saaledes gik det fremdeles. Hver Gang noget nyt blev foreslaaet, bekræftedes dets Værdi fra forskellige Sider, medens — maaske de fleste — fandt det nye ganske uanvendeligt.

Efter 20 Aars energisk Arbejden var man altsaa naaet til i enkelte Tilfælde at have dyrket et Virus, der indpodet paa Mennesker havde fremkaldt de for Gonorrhoe karakteristiske Symptomer; men den største Usikkerhed og Uoverensstemmelse prægede fremdeles disse Arbejder.

Medens der herskede en maaske beklagelig Uenighed blandt Forskerne med Hensyn til Gonokokkens Vækstbetingelser, var der imidlertid en højst sørgelig Enighed blandt dem, der ad den tredie, den dyreexperimentelle Vej søgte Oplysning om det gonorrhoeiske Virus, en Enighed, der konkluderede i det triste Faktum, at en Bearbejdelse af Spørgsmaalet »Gonokokinfektion« ud fra den Basis var udelukket. Blandt samtlige Laboratoriedyr fandtes ikke et eneste, der var modtageligt for den paagældende Infektion — selv ikke de antropoïde Aber. En Del Meddelelser fremkom ganske vist om »Anslag« efter Inficering af Dyr. *Hewes* meddelte saaledes i 1885, at han havde fremkaldt Genitalblennorrhoe hos en Hunhund. *Horand & Peuch* skrev i 1887, »*la blennorrhagie de l'homme peut s'inoculer au chien et donne naissance à une uréthrite*«, men de tilføiede, at Urethriten forløb ikke som hos Mennesker, »*elle avorte comme une graine*

semée en un terrain stérile«. Heller mente at kunne fremkalde Ofthalmoblenorrhoe hos unge Kaniner, *Sorrentini* Ledbetændelser hos Hunde og Kaniner, og *Wertheim* akut Peritonitis hos Mus ved at indføre Ascitesagarstykker med Vækst af Gonokokker i deres Peritonealhule. Men aldrig er det lykkedes at gentage disse Resultater, saa en Del af dem maa sikkert tilskrives Sekundærinfektion, og en anden Del aseptiske Betændelser fremkaldt af det under Gonokokkernes Autolyse frigjorte Endotoxin (som *de Christmas* i 1897 mente at kunne paavise).

Trods alt rejstes der naturligvis ogsaa fra forskellig Side Indvendinger mod det nyfundne Virus Specificitet saaledes fra *Zeissl* og fra *Ricord's Elev Fournier*, som ikke vilde benægte Gonokokkens ætiologiske Betydning ved Gonorrhoeen, men som blot hævdede, at den ikke var den eneste Aarsag dertil. Og med de stadig udvidede Undersøgelser paavistes snart hos en Del sunde Mennesker Diplokokker, der med de forhaandenværende biologiske Særkender ikke lod sig skelne fra Gonokokker. *Eraud*, *Ecklund* og *Sternberg* mente saaledes baseret paa Undersøgelser af den sunde Urethra, hvori de fandt gonokoklignende Mikrober, at Gonokokken var en almindelig forekommende Saprophyt, som under visse Betingelser kunde blive pathogen. *Giovanni* skyllede Urethra med sterilt Vand og ved derpaa at udsaa dette paa forskellige Substrater, fik han Vækst af 2 Diplokokker, hvoraf »den ene i høj Grad lignede Gonokokken, mens den anden kun undtagelsesvis gjorde det«. Det følgende Aar — 1887 — paaviste *Lustgarten & Mannaberg* Tilstedeværelsen af ikke mindre end 7 Diplokokker, der alle lignede Gonokokker, og i 1893 fandt *Eraud & Huguenenq* en Gram-negativ Diplokok, »*Orchiococcus*«, der »voksede paa almindelig Agar, men iøvrigt ganske

lignede Gonokokken» og 2 mindre Arbejder, af *Aubert* og *de Amicis* bidrog til yderligere at forvirre Begreberne.

Aubert hævdede, at ligesom et og samme Virus frembragte forskellige Virkninger, hvad enten det angreb det ene Organ eller det andet, kunde det samme Symptomkompleks fremkaldes af talrige forskellige Aarsager, — in casu: Gonokokken var ikke den eneste Aarsag til Gonorrhoe. I Virkeligheden altsaa en Tilbagevenden til den gamle *Ricord'ske* Lære.

Faa Maaneder efter *Auberts* Meddelelse offentliggjorde *de Amicis* et Arbejde, hvori han bl. a. skrev: »*Je n'ai pu distinguer du Gonocoque les diplocoques qu'on trouve dans la vulvovaginite des petites filles*«, — og det var der nu i Øjeblikket heller ingen anden, der kunde. Hans Meddelelse blev derfor snart bekræftet fra flere Sider, og den medførte en for en Nutidslæser fuldkommen ubegribelig Forvirring indenfor hele det specielle Omraade af Bakteriologien. En Del Forskere benægtede nu Muligheden af overhovedet at kunne diagnosticere Gonokokker, andre, der særlig interesserede sig for Bakteriefundet ved de gonorrhøiske Komplikationer, søgte at skelne mellem Virkningen af den primære Gonokokinfektion og af Sekundærinfektionen. Fra snart sagt alle Laboratorier, hvor man var beskæftiget med bakteriologiske Studier, fremkom Meddelelser om Bakteriefloren i normal og syg Urethra, og Undersøgelserne fortsattes fremdeles med usvækket Energi. *Steinschneider* paapegede, at Gonokokkerne optræder i saa karakteristiske Hobe inden i Leukocyterne, at de ikke lader sig forveksle med nogen anden Mikrob. *Neisser* paaviste forskellige biologiske Egenskaber ved Gonokokken navnlig med Hensyn til Vækstforholdene, hvorved han mente at kunne skelne sin Gonokok fra bl. a. de 7 af *Lustgarten* & *Mannaberg* paaviste Diplokokker, og gennem Paavisning af flere og flere specifikke Egenskaber for Gonokokken lykkedes det efterhaanden at skelne den fra de fleste af de Mikrober,

der havde bidraget til at forvirre Begreberne, saaledes at der omkring Aarhundredskiftet begyndte at falde Ro over de forskellige Lejre. Men hvor vidt var man saa naaet i Forskningsarbejdet?

Man var naaet til at fastslaa Eksistensen af en Diplokok — den *Neisser'ske* Gonokok — og strengt taget ikke videre. Thi en Række saavel Bakteriologer som Speciallæger vægrede sig fremdeles ved at anerkende Specificiteten. Nogle kunde ikke konstant paavise Gonokokker, og andre fandt regelmæssigt en Del Mikrober, der med lige saa stor Sandsynlighed kunde være Aarsag til Gonorrhoeen og dens Komplikationer. En tredie Gruppe kunde ikke skelne Gonokokker fra Saprofyter, der vegeterede paa den normale Urethralslimhinde. Og ved Siden af alle disse Tvivlere fandtes der saa endelig en Gruppe af fanatiske Gonokoktilhængere, der fuldtud anerkendte dens kausale Betydning.

Stort videre er Arbejdet ikke naaet den Dag i Dag. Dyrkning af Gonokokken er stadig præget af Usikkerhed og forbundet med ret store Vanskeligheder. En dyreexperimentel Bearbejdelse af Spørgsmaalet er fremdeles udelukket. Der melder sig, som vi skal se, stadig Forskere, der ikke med Sikkerhed kan skelne Gonokokker fra andre Diplokokker. Kun om den *Neisser'ske* Mikrobs ætiologiske Betydning maa Striden vel siges at være ebbet ud. Fra alle Sider anerkendes nu det *Neisser'ske* Virus' kausale Betydning ved de gonorrhoeiske Betændelser, og deri har vel den moderne, serologiske Videnskab haft sin ikke ringe Andel.

Omkring det tyvende Aarhundredes Begyndelse glider de bakteriologiske Undersøgelser med *Rob. Koch's*, *Behrings* og *Ehrlich's* Navne over i et nyt Spor — det immunserologiske, et Spor, som har aabnet en vidtstrakt Arbejdsmark for mikrobiologiske Studier.

Det var saadanne Undersøgelser, Paavisning af de specifikke Antistoffer, der bidrog til yderligere at fastslaa Gonokokkens Betydning ved de gonorrhøiske Lidelser, og det er gennem saadanne Undersøgelser, at vi i det følgende vil søge Klarhed over Gonokokgruppens finere Bygning og over den indbyrdes Sammenhæng mellem dens enkelte Repræsentanter.

II. Adskillelse af Gonokokker fra nærstaaende Mikrober.

Den første Betingelse for overhovedet at kunne arbejde med Gonokokker er selvfølgelig at kunne skelne dem fra nærstaaende Mikrober, men i det foregaaende har vi hørt, hvilken Uenighed der herskede blandt Forskerne med Hensyn til Identificeringen. — Med de forholdsvis faa biologiske Reaktionen, som for 20 Aar siden stod til Bakteriologens Disposition, var der maaske knap Grund til at undres derover, men endnu hersker der nogen Usikkerhed. For kun faa Aar siden (1913) skrev saaledes Warden: *»Many, if not all, of the Gram-negative, intracellular, biscuit- or coffee-bean shaped cocci, observed in the purulent discharge in acute gonorrhea, which are regarded as gonococci and which serve as criteria of diagnosis, are not gonococci, but belong to the staphylococcus group«*.

Det er jo nu imidlertid almindelig anerkendt, at netop de Kokker, som Warden ovenfor omtaler, og som han benævner *»staphylococcus urethrae«*, for det store Flertals Vedkommende er de specifikke Gonokokker. Men Warden fortsætter: *»true gonococci are demonstrable with difficulty or not at all in smears of gonorrheal exudates or in preparations of tissues«*, og han lancerer en højst ejendommelig Teori, der gaar ud paa, at under den gonorrhøiske Infektion bliver Staphylokokkerne i Urethra Gram-negative, medens de i

sædvanlig Kultur udenfor Organismen holder sig Gram-positive. Paa Forhaand synes dette jo noget usandsynligt, da man ikke andre Steder har iagttaget lignende Ændringer i Bakteriernes Farvemodtagelighed under Betændelsesprocesser, og snart efter Offentliggørelsen af Warden's Artikel fremkom da ogsaa *Granville-Chabtree* med Kommentarer dertil. Han gav en sandsynlig Forklaring paa Wardens besynderlige Teori, idet han hævdede, at ligesom Colibaciller under visse Vækstbetingelser f. Eks. i meget fede Substrater syntes at være Gram-positive, saa kunde andre ydre Faktorer som f. Eks. Albuminstoffer tilhyle normalt Gram-positive Bakterier og gøre dem tilsyneladende Gram-negative. *Granville-Chabtree* mente derfor, at Gram-negative Diplostaphylokokker kunde frembringes i Laboratoriet og sandsynligvis ogsaa var at finde i Urethra, men den Omstændighed, at de syntes Gram-negative, skyldtes en mekanisk Interposition af Albumin, thi »Staphylokokken i sig selv kan aldrig blive Gram-negativ, saalidt som Gonokokken kan blive Gram-positiv«.

Inden vi nu gaar i Gang med vore Undersøgelser, vil antagelig en kort Omtale af de Krav, som i vore Dage maa stilles til en Mikrob for at klassificere den som Gonokok, være paa sin Plads. De vigtigste Kendetegn paa Gonokokken bliver da følgende:

1) *Gonokokker er Gram-negative Diplokokker af karakteristisk Form.* Hertil maa dog bemærkes, at selvom det er Reglen i Udstrygningspræparat af gonorrhøisk Pus og i den primære Kultur at finde de karakteristiske biscuit- eller kaffebønneformede Diplokokker, saa taber disse morphologiske Kendetegn sig almindeligvis gennem længere Tids Dyrkning, idet baade Gonokokkernes Størrelse og Form og deres Lejring kan undergaa ret betydelige Svingninger, saaledes som det ogsaa vil fremgaa af omstaaende Mikrofotografier.

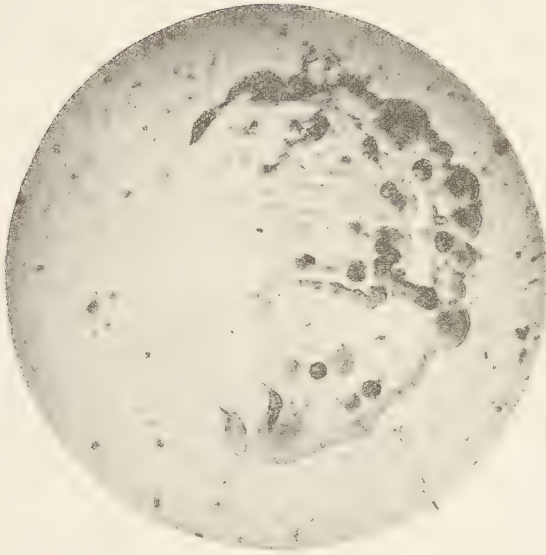


Fig. I: 8 Dage gammel Gonokokkultur med «Døtrekolonier».
(Ascitesagar.) Der ses nogle Udfældninger i Substratet.
(Ca. 10 $\times$ normal Størrelse.)



Fig. II. Gramfarvet Udstrygningspræparat fra 20 Timers alm.
Renkultur af Gonokokker Normal Form.
(Ca. 1200 $\times$ forstørret.)

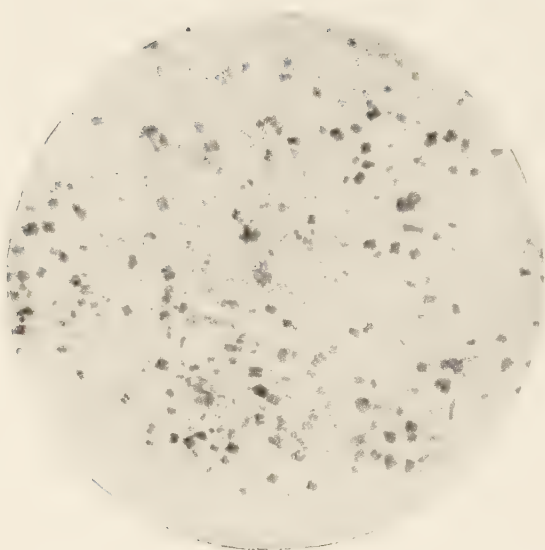


Fig. III: Gramfarvet Udstrygningspræparat fra »Døtrekoloni«.
De enkelte Gonokokker ses betydelig større end normalt,
uregelmæssigt formede og hyppigt liggende i Tetrader.
(ca. 1200 $\times$ forstørret.)

2) *Gonokokker forgærer Glukose, men ikke Maltose og Lævulose.* Forgæringshastigheden og -intensiteten er noget varierende for de forskellige Stammer, idet Syredannelsen for nogle Stammers Vedkommende er udtalt efter 24 Timer, medens den for andre Stammers Vedkommende først indtræder efter 4—5 Døgn's Forløb.

3) Paa kunstige Substrater udvikler Gonokokkerne *karakteristisk udseende Kolonier*, halvkugle med granuleret Midtparti og med koncentrisk og radiær Stribning. De enkelte Kolonier er let sammenvoksende, let forskydelige paa Overfladen af Substratet og af slimet, traadtrækkende Konsistens. (Se dog senere). Ved Dyrkning paa ugunstigt Substrat bliver Koloniernes Udseende mat, porcellænsagtigt. (Da

adskillige af de nyere Afhandlinger over Gonokokker indeholder særdeles gode fotografiske Reproduktioner af Koloniernes Udseende, har jeg ment her at kunne renoncere paa saadanne.)

4) *Gonokokker agglutineres af (resp. komplementbinder i) et polyvalent Gonokokserum og absorberer »Artsantistoffet«* fra dette. (Hvad der forstaas ved »Artsantistof« vil fremgaa af det følgende).

Opfylder en Mikrob disse 4 Betingelser, da — og kun da — tør vi benævne den Gonokok og indlemme den i det Materiale, som vi i det følgende vil bearbejde.

SEROLOGISKE UNDERSØGELSER

I. *Agglutinin*er.

Der er maaske næppe nogen anden Infektionssygdom, overfor hvilken Læresætningerne fra den moderne Immunitetslære hidtil har faaet saa ringe Betydning som ovenfor Gonokokinfektionen. Det er jo en almindelig kendt Sag, at overstaaet Gonorrhoe ikke yder nogen som helst Garanti mod Reinfektion, og at altsaa Immunitet i den Forstand, som vi kender den fra en Række andre Infektioner, ikke eksisterer her. Maaske var det heller ikke at vente, at en saa overfladisk Katarrh, som en ukompliceret Gonorrhoe i og for sig er, skulde paavirke den inficerede Organisme til Antistofdannelse og dog, overfor andre tilsyneladende lige saa ubetydelige og overfladiske Angreb paa Organismen har vi set, at den reagerer derimod. Vi behøver saaledes blot at mindes Immuniteten mod Trichofyti efter overstaaet Lidelse for straks at vise et Eksempel derpaa.

Der var imidlertid kun gaaet kort Tid, efter at *Gruber & Durham* i 1896 havde paavist Agglutinationen som en specifik Immunitetsreaktion, og *Widal* fastslaaet dens Værdi for Tyfusdiagnosen, før Undersøgelser over specifikke Agglutininers Forekomst og over deres Værdi som diagnostisk Hjælpemiddel ved Gonorrhoe var i fuld Gang.

Man forsøgte først gennem Immunisering af Forsøgsdyr

(Kaniner) at paavise specifikke Agglutininere i disse, og medens bl. a. *Wildbolz* mente at kunne paavise saadanne, benægtede andre som *Moltschanoff* og *Jundell* deres Tilstedeværelse, den sidste støttet til en Teori om, at Gonokokkerne, der ikke paavirkede Kaninerne med »specifikt Toxin«, heller ikke kunde fremkalde »specifikt Antistof«.

I 1906 fremstillede *Bruckner & Cristeanu* for første Gang et Hesteimmunserum ved aktiv Immunisering med Gonokokker. De oplyste, at deres Serum agglutinerede alle Gonokokker og Meningokokker lige godt.

Kort Tid efter fremstillede *Colombo* et Immunserum, hvis Agglutininere forholdt sig paa samme Maade; men i Serum, fremstillet af *Dopter & Koch* i 1908, mente disse at kunne paavise specifikke Agglutininere for henholdsvis Gonokokker og Meningokokker. Og *Vannod*, *Torrey* og *Elser & Huntoon*, der ogsaa mente at finde specifikke Agglutininere, anvendte de agglutinerende Sera til derigennem at differentiere de 3 store Gram-negative Diplokokgrupper, Meningokokker, Gonokokker og *Micrococcus catarrhalis* fra hverandre.

Med den Betydning, som Widalreaktionen fik for Tyfusdiagnosen, var det kun rimeligt, at Metoden ogsaa blev gennemprøvet med Hensyn til den mulige Forekomst af specifikke Agglutininere i Serum hos gonokokinficerede Patienter.

Jundell, *Scholtz* og flere andre undersøgte en Række Patientsera, uden at det lykkedes dem at paavise Agglutininere deri. *Wildbolz* mente i enkelte Tilfælde at kunne paavise saadanne, men ogsaa han fik i det overvejende Flertal af de undersøgte Sera ingen Reaktion. Adskillige, bl. a. ogsaa Forfatteren til nærværende, har siden uden større Held forsøgt at paavise de specifikke Agglutininere, selv har jeg saaledes i intet Tilfælde opnaaet mere end et lige paaviseligt Spor af Agglutination i Patientsera, og saa meget kan i hvert Fald

trygt siges, at som diagnostisk Hjælpemiddel har Agglutination af Gonokokker i Serum fra den inficerede Organisme aldrig haft, og vil den næppe nogen Sinde faa Betydning.

En Del større Forventninger synes det derimod berettiget at knytte til den Immunreaktion, som vi i det følgende skal beskæftige os med, Komplementbindingen.

II. Komplementbindende Antistoffer.

Komplementbindingen blev i 1901 paavist af *Bordet & Gengou* i *Metchnikoffs* Laboratorium. Gennem *Neisser & Sachs'* Paavisning af Fænomenets Indtræden ved Sammen træf mellem dyrisk Æggehvide og Serum af Dyr, der var forudbehandlede med samme Æggehvidestof, og gennem *Wassermann & Bruck's* Undersøgelser (1906), der lærte os Reaktionen Betydning som en specifik Immunitetsreaktion, er den bleven af den allerstørste Værdi som Basis for experimentel Forskning indenfor de forskelligste Omraader af Infektionspathologien.

Længe varede det da heller ikke, inden »Deutsche medizinische Wochenschrift« fremkom med den første Meddelelse om positiv Komplementbindingsreaktion ved Gonorrhoe. Det var *Müller & Oppenheim*, der, endnu i Aaret 1906, i Serum fra en Patient med svære gonorrhøiske Metastaser, paaviste Tilstedeværelsen af de specifikke Amboceptorer.

Meddelelsen blev snart efterfulgt af andre. I 1907 offentliggjorde *Meakins* et Arbejde, hvori han hos nogle Patienter med Gonokokinfektion, men dog langt fra hos alle, havde fundet positiv Komplementbindingsreaktion og det til Trods for, at samtlige Sera var taget fra Patienter med svære Almeninfektioner.

1909 fandt *Bruck* positiv Reaktion hos 2 blandt 6 Kvinder

med gonorrhøisk Salpingitis; 1910 mødte *Watabiki* frem med lignende Resultater — snart positiv og snart negativ Reaktion trods tilsyneladende ensartede Infektioner. En Række Sera fra Patienter med ikke gonorrhøiske Infektioner gav altid negativ Reaktion.

Ind mellem disse Undersøgelser af Patientsera kom saa Resultaterne ved Dyreimmunisering, gennem Undersøgelser af *Teague & Torrey*, af *Vannod*, *Watabiki*, *Wollstein* o. a. Ved Hjælp af Kaninimmunsera mente man at kunne paa-vise forskellige specifikke Amboceptorer, ikke blot for Arterne Meningokok og Gonokok, men ogsaa for de enkelte Gonokokstammer indbyrdes. Disse Erfaringer gav Stødet til, at *Schwartz & Mc. Neil*, for de gik i Gang med deres store Undersøgelse af Patientsera, som offentliggjordes i 1911—12, gennemprøvede en Del forskellige monovalente Antigener og kom til det Resultat, at de enkelte Gonokokstammer adskiller sig saa stærkt fra hinanden, at et Gonokokserums Antistof i mange Tilfælde ikke kan bindes til en fremmed Gonokokstammes Antigen. »Man vil derfor«, skriver de, »ved Anvendelse af monovalent Antigen faa mange negative Reaktionen, som burde være positive.«

I Stedet for, som tidligere Undersøgere, at bruge en enkelt Gonokokstamme som Antigen, anvendte *Schwartz & Mc. Neil* derfor et polyvalent Antigen, en Blanding af 9—12 Gonokokstammer.

Materialet til deres Undersøgelser udgjorde ikke mindre end 324 Sera, dels fra sunde og dels fra Patienter med gonorrhøiske og andre Infektioner.

Resultaterne deraf vil fremgaa af omstaaende Skema, der er laant fra deres Afhandling.

	Antal Tilfælde	Pos. Reak- tion.	Neg. Reak- tion.
1) Akut gon. Urethrit, 1. Angreb.			
a) Varighed 3 Dage - 3 Uger....	5	0	5
b) » usikker.....	1	1	0
2) Akut Urethrit. (+ Gonokokker)..	1	0	1
3) Kron. Urethrit. (Gon. Ætiologi.)			
a) + Gonokokker.....	4	4	0
b) ÷ Gonokokker.....	36	27	9
c) Ikke undersøgt.....	8	7	1
4) Kron. Urethrit. (Gon. ?).....	4	1	3
5) Kron. Prostatit.			
a) Gon.....	25	17	8
b) Gon. ?.....	2	1	1
6) Sterilitet (Gon. Ætiologi).....	3	1	2
7) Epididymit.			
a) Gon.....	3	2	1
b) Gon. benægtes.....	4	1	3
8) »Verumontanum cases«			
a) Gon.....	17	11	6
b) Gon. benægtes.....	6	2	4
9) Blandede Tilf. uden Tegn paa Gon.	20	0	20
10) Gon. hos Mænd. (Klin. heldbredte)	51	22	29
11) Tilf. behandlet med Vaccine....	7	7	0
12) Ledaffektioner			
a) Gon. Arthrit.....	14	14	0
b) - - (?).....	7	4	3
c) Andre Ledaffektioner.....	9	1	8
13) Gravid (Offentl. Fødestft.).....	38	15	23
14) Gynækol. Tilf.			
a) oplagt ell. formodet Gon.....	29	23	6
b) uden Tegn paa Gon.....	30	10	20

Af Skemaet vil særligt bemærkes: 1) at Komplementbindingen i Sera fra Patienter med ikke gonorrhoiske Lidelser konstant er negativ, 2) at de vaccinebehandlede Patienter alle giver positiv Reaktion, og 3) at Forfatterne blandt de gonorrhoiske Patienter finder den samme uforklarlige Svingning mellem positiv og negativ Reaktion, som de fleste tidligere Undersøgere havde fundet med det monovalente Antigen.

Der foreligger Undersøgelser af *Dembska* og *Nencioni* med tilsvarende Resultat. Ved Tilberedning af Antigenet paa den af *Altmann & Schultz* i 1909 beskrevne Maade (Antiforminextrakt) lykkedes det imidlertid *Finkelstein* at faa positiv Reaktion i 100 % af sine undersøgte 57 gonorrhoiske Patientsera, og snart efter lykkedes det *Merkurjew* ligeledes ved Anvendelse af Antiforminmethodens at opnaa samme Resultat med 47 undersøgte Patientsera, negativ Reaktion hos 9 sunde.

Senere Undersøgere har desværre ikke med saa stort Held kunnet benytte Antiforminextrakt af Bakterier som Antigen, ej heller Forfatteren til nærværende.

Foruden de alt nævnte har i det sidste Tiaar et Utal af Undersøgelser over Komplementbindingsreaktionens Betydning for Diagnosen »Gonorrhoe« set Dagens Lys. Vi behøver blot at nævne *Gardner & Clowe's* fra 1912, *Kolmer & Brown's* fra 1914, *Irons & Nicolle's* fra 1915, *Nicolle, Debain & Jouan's* fra 1919, *Smith & Wilson's* fra 1920, *Kilduffe's* og *Cook & Stafford's* fra 1921 for at tage et Udvalg passende til at vise, at det ikke har skortet paa Undersøgelser i den Henseende. Og hvad er Resultatet af alle disse Undersøgelser saa blevet?

Snart negative og snart positive Reaktionen — tilsyneladende uden nogen som helst Sammenhæng med et let eller kompliceret klinisk Forløb. En Del akute, ukomplicerede Tilfælde gav positiv Reaktion, (flere dog ganske vist negativ). De svære, metastaserende Infektioner gav maaske i de fleste

Tilfælde positiv Reaktion, men i en ikke ringe Part af de komplicerede Tilfælde var Reaktionen negativ; og de kroniske Tilfælde var snart positive og snart negative.

Inden jeg gik i Gang med nærmere at undersøge Aarsagen til disse Forhold, foretog jeg nogle Komplementbindingsreaktioner med Serum fra gonorrhøiske Patienter, for at overbevises om Rigtigheden af den tilsyneladende saa tilfældige Optræden af de komplementbindende Antistoffer. (Angaaende Teknikken derved se senere).

III. *Egne indledende Undersøgelser over Forekomsten af Antistof i Sera hos gonokokinficerede Patienter.*

Jeg benyttede et polyvalent Antigen bestaaende af 8 Gonokokstammer suspenderet i fysiologisk Saltvand og undersøgte 26 Sera, hvoraf de 18 hidrørte fra gonorrhøiske Patienter, men Resultaterne var allerede heraf saa lidet opmuntrende, at de alt andet end tilskyndede mig til umiddelbar Fortsættelse.

De 18 Sera fra gonokokinficerede Patienter var følgende:

14 Sera fra Patienter med ukomplicerede Tilfælde.

2	»	»	Tilfælde kompliceret med	{	Urethrit. post.
					Prostatit.
					Epididymit.

1 Serum fra Tilfælde kompliceret med Arthroit. gen.

1 » » kronisk forløbende Tilfælde (ca. 2 Aar).

Blodproverne var taget tidligst efter ca. 3 Ugers Behandling og senest 2 Maaneder efter dennes Ophør altsaa indenfor et Tidsrum, hvor man — efter tidligere Undersøgelser — maatte vente at finde positiv Reaktion, saafremt Tilfældet gav Mulighed for en saadan.

Paa Forhaand vilde man vel nærmest vente, at de ukom-

plicerede Tilfælde skulde forløbe uden Antistofdannelse og de komplicerede i Særdeleshed de metastaserende med saadan, men Resultaterne blev følgende:

15 Sera gav negativ Komplementbindingsreaktion.

1 Serum gav svag positiv Reaktion.

2 Sera gav stærk positiv Reaktion,

og efter det kliniske Forløb fordelt paa følgende Maade:

Negativ Reaktion:	{	12 ukomplicerede Tilfælde.	{	Urethrit. post.
		1 Tilfælde kompli-		Prostatit.
		ceret med		Epididymit.
		1 Tilfælde kompliceret med		
		Arthroit. gen.		
		1 kronisk forløbende Tilfælde.		

Svag positiv Reaktion: 1 ukompliceret Tilfælde.

Stærk positiv Reaktion:	{	1 ukompliceret Tilfælde.
		1 Tilfælde kompliceret med Prostatit. og Epididymit.

Sera fra de 8 sunde gav alle negativ Reaktion.

Resultatet blev altsaa ikke, som man var tilbøjelig til at vente.

For nogle Seras vedkommende prøvede jeg desuden Reaktionen med nogle monovalente Antigener og med Antigen tilberedt som Antiforminextrakt ad mod. *Altmann & Schultz*. Resultaterne blev omtrent de samme som ovenfor, og Antiforminextraktet gav i hvert Fald ikke de straalende Resultater, som man efter de omtalte Undersøgelser maatte have Lov til at vente.

I det store og hele syntes egne Resultater altsaa at bekræfte, hvad tidligere Undsøgere havde fundet, nemlig: Svære, metastaserende Tilfælde uden paaviseligt Antistof og omvendt, ukomplicerede Tilfælde med positiv Reaktion.

Hvad betyder da en positiv Reaktion, — og hvad en negativ?

I intet Tilfælde har hverken jeg eller andre set positiv Komplementbindingsreaktion uden samtidig eller nylig overstaaet Infektion, saa det kan antagelig fastslaas, at *en positiv Reaktion er ensbetydende med en bestaaende eller en nylig helbredet Infektion*, at den med andre Ord i alle Tilfælde giver en overvejende Sandsynlighed for Diagnosen »Gonorrhoe«, — og allerede derved yder den en værdifuld Hjælp i mange senere Stadier af disse Infektioner selvfølgelig i Særdeleshed, hvor Diagnosens Bekræftelse ad anden Vej er vanskelig eller udelukket som i Tilfælde, hvor man staar over for den ofte vanskelige Differentialdiagnose mellem rheumatisk, tuberkuløs eller gonorrhøisk Ledlidelse, ved Adnexlidelser hos Kvinder — og lign.

Talrige Undersøgelser har alt vist, at udover 7—8 Uger efter Infektionens Ophør holder Reaktionen sig ikke positiv, i alt Fald ikke med mere end et lige paaviseligt Spor af Antistof, saa i Tilfælde hvor man ikke kan paavise Udflod eller Gonokokkers Tilstedeværelse, men hvor Reaktionen stadig holder sig positiv, dér maa man sikkert regne med et skjult Focus.

At den negative Reaktion derimod ikke kan udelukke Muligheden for en bestaaende Infektion, fremgaar tydeligt nok af, hvad vi i det foregaaende har hørt. Vi skal senere se, om man maaske alligevel tør tilskrive ogsaa den negative Reaktion en vis — prognostisk — Betydning.

Hvorom alting er, *man kan ikke, selv paa det nuværende Stadium, frakende Komplementbindingsreaktionen nogen diagnostisk Værdi ved de gonorrhøiske Betændelsestilstande*. Her i Landet anvendes Reaktionen endnu ikke som et praktisk Hjælpemiddel til Diagnosen af de vanskelige Tilfælde af gonorrhøisk Infektion, men i Amerika anvendes den allerede

i overordentlig stor Udstrækning. Ved en Del store Hospita-
ler i U. S. A. bliver saaledes samtlige Blodprøver undersøgte
baade for Syfilis og for Gonorrhoe. Sikkert er det, at Kom-
plementbindingsmetoden i visse Tilfælde kan være det ene-
ste Middel, hvorved man med Sikkerhed vil kunne diagnos-
ticere en Gonokokinfektion, og derfor maa det haabes, at
Reaktionen med Tiden ogsaa vil finde Indpas i den danske
Klinik.

*Hvad er Aarsagen til disse snart stærke, snart svage og
snart udeblivende Reaktioner ved tilsyneladende ensartede
Infektioner?*

En Faktor til Belysning deraf blev paavist af *Irons & Ni-
colle*, idet de i længere Tid gennem daglig Maaling fulgte
Antistoffet hos samme Patienter. Det viste sig nemlig derved,
at blev en Patient med en positiv Antistofreaktion febril f.
Eks. under Udviklingen af metastatiske Ledtilfælde, saa
svandt omgaaende den positive Reaktion fra Blodet for først
efter Temperaturfaldet at vende tilbage.

En anden Faktor, *Reinfektion*, vil antagelig ogsaa kunne
paavirke Reaktionens Styrke ved gennem en svag Irritation,
for svag til at paavirke normale Celler, at paavirke de »sensi-
biliserede« Celler, — i Overensstemmelse med den af *v. Dun-
gern* i sin Tid opstillede Teori om »Sensibilisering« af de an-
tistofdannende Celler.

Selv har jeg gennem Kaninimmuniseringer paavist Mu-
lighed for »Sensibilisering« og Virkningen deraf.

Forsøg:

Mit Forsøg drejede sig om 2 Kaniner, hvoraf den ene 10
Mdr. tidligere var aktivt immuniseret mod Gonokokker, men
nu var uden paaviseligt Antistof. Den anden Kanin var frisk.
Begge Dyr sprøjtedes samtidigt intravenøst med hver 0.5 cm³
Gonokokvaccine, og 5 Døgn senere frembød den tidligere

immuniserede »sensibiliserede« Kanin et meget kraftigt Immunserum, medens der i den anden Kanin kun fandtes et Spor af Antistof.

Den Mulighed kan derfor ikke udelukkes, at, naar man hos Patienter med lette ukomplicerede Gonokokinfektioner finder en kraftig Komplementbindingsreaktion, saa hidrører denne fra Antistoffer, fremkaldt af de gennem een — eller maaske flere — tidligere Infektioner »sensibiliserede« Celler. Men individuelle Forhold gør sig sikkert ogsaa gældende, thi ligesom man træffer Mennesker med forskellig Resistens overfor forskellige Infektioner, saaledes kan man antagelig ogsaa træffe *Individer, der er mere og mindre gode Antistofdannere.*

Endelig kunde Aarsagen jo ogsaa ligge i den *inficerende Mikrobs mere eller mindre udprægede »antigene«* (antistofinciterende) *Egenskaber.*

Vi ser her atter en Række Spørgsmaal aabne sig, Spørgsmaal, som vi kun finder Mulighed for at besvare gennem et intimere Kendskab til Gonokokkens biologiske Forhold, og specielt til dens Virkning paa den levende Organisme.

Paa det Tidspunkt, da jeg foretog disse indledende Undersøgelser, var der paa Seruminstitutet udstrakte Undersøgelser i Gang vedrørende Meningokokkernes Typepræg her i Landet. Det var derfor ret nærliggende, at jeg foreløbig indstillede Undersøgelserne af Patientsera og først gik i Lag med at undersøge:

Danner Gonokokkerne en i serologisk Henseende enkelt Bakteriotype, eller lader de sig i Lighed med Pneumokokker, Meningokokker og andre Bakteriearter uddifferentiere i Typer, — og hvorledes paavirkes i saa Fald den dyriske Organisme af hver enkelt af disse?

Med dette Formaal for Øje gik jeg i Gang med Indsamling af Gonokokstammer.

BAKTERIETYPER

I. *Almindelig Oversigt.*

Den betydelige Interesse, der baade fra et biologisk og fra et epidemiologisk Synspunkt knytter sig til Spørgsmaalet om Bakterietyperne, har medført, at der i det forholdsvis korte Spand af Tid, i hvilket den bakteriologiske Forskning har beskæftiget sig med Undersøgelser af den Art allerede er foretaget en lang Række Arbejder og fremkommet en meget fylldig Litteratur inden for det paagældende Omraade af Pathologien.

Men det er dog væsentlig om nogle ganske enkelte Arter af Mikroorganismer, saasom Pneumokok- og Meningokoktyper, at de paagældende Arbejder har koncentreret sig.

Ogsaa indenfor Tyfus-Coligruppen, de hæmoglobinophile Bakterier, Pest, Tetanus og en Række andre Bakteriearter har man imidlertid med mere eller mindre Held søgt at uddifferentiere Typer.

Naar Gonokokkerne trods deres store Udbredelse hidtil har været noget stedmoderligt behandlet med Hensyn til slige Undersøgelser, saa maa det antagelig tilskrives forskellige Omstændigheder og da først og fremmest den, at Rendyrkningen af Gonokokker, som vi skal se er en nødvendig Betingelse for Typeundersøgelse, altid har været og fremdeles er forbundet med store Vanskeligheder, saa store, at de fleste,

der hidtil har fordybet sig i Gonokokstudier, særlig har koncentreret sig om Undersøgelser over Gonokokkens Vækstbetingelser — og ikke er naaet videre. Og de Forskere, hvem det endelig er lykkedes at samle en Del Kulturer med andet Formaal for Øje, har ofte maattet opgive dette paa Grund af Vanskelighed ved gennem længere Tid at holde Gonokokkulturerne i Live.

Adskillige Gange er man saaledes blevet skuffet ogsaa her til Lands ved, naar man havde samlet en Del Gonokokstammer og skulde paabegynde sine Undersøgelser, pludselig at finde samtlige Kulturer uddøde uden at det var muligt at paavise nogen Aarsag dertil.

I Løbet af de sidste 15 Aar er der dog, især fra amerikansk Side nu og da fremkommet Undersøgelser, der kunde tyde paa, at Gonokokkerne dannede en heterogen Familie.

De tidligste blandt disse Arbejder er alt flygtigt nævnt i det foregaaende. *Torrey* skrev saaledes i 1906, at skønt Agglutinationsforholdene efter Absorption med Gonokokker var »noget ustabile«, lod 10 Gonokokstammer sig dog dele i 3 Typer med hver 2 Repræsentanter og 4 selvstændige Stammer. Alle Stammerne (undtagen de samhørende Type-stammer) agglutineredes uafhængigt af hverandre, de viste sig forskellig toxiske for Laboratoriedyr, og de viste forskellig Levedygtighed paa almindelig Agar. Forfatteren mente at kunne paavise Overgangsformer mellem de 3 Typer og desuden, at nogle Stammer dannede bedre Immunstof end andre

Samme Aar offentliggjorde *Teague & Torrey* et Arbejde, hvori de til Uddifferentiering af Gonokoktyper benyttede Komplementbindingsmetoden i Stedet for Agglutinationerne, — dog ikke i Forbindelse med Absorptionsforsøg. Det viste sig. — skrev de — at Serum af et Dyr, der var immuniseret med een Gonokokstamme, ikke gav Komplementbindingsre-

aktion med Antigen fremstillet af en hvilken som helst anden Gonokokstamme, og Forfatterne mente som Følge deraf at turde slutte, at Gonokokkerne maatte danne en heterogen Familie. De paapegede, at denne Heterogenitet kunde medføre Fejlslutninger, hvis man vilde anvende Komplementbinding i monovalent Serum til Differentiering af Gonokokker fra andre Mikroorganismer eller i Tilfælde, hvor man vilde anvende en enkelt Gonokokstamme til at afgøre, hvorvidt der fandtes specifikt Antistof i en Gonorrhoeopatiens Blod. I første Tilfælde anbefalede de derfor Anvendelse af polyvalent Serum og i sidste af polyvalent Antigen.

Vi har hørt, hvorledes *Schwartz & Mc. Neil* senere kom til samme Resultat, og at de tog sig det ad notam ved deres Undersøgelser af Patientsera.

I 1910 mente *Watabiki* ved simpel Komplementbinding at kunne dele 8 Gonokokstammer i 2 Grupper; men han tilføjede: »*The differences among the gonococci were only comparative, and not distinctive*«.

1915 fremkom et mindre Arbejde af *Louise Pearce*, hvori Forfatterinden baade ved Agglutination og ved Komplementbinding (men uden Absorptionsforsøg) mente at kunne paa-vise en tydelig Forskel mellem Gonokokstammer fra Børn (Smaapiger med Vulvovaginitis) og fra voksne Kvinder. Da det af Forfatterinden undersøgte Materiale imidlertid kun bestaar af Stammer fra 9 voksne og fra 3 Børn, tør man dog næppe tillægge Resultatet nogen større Betydning.

Endelig findes i Litteraturen enkelte Smaaarbejder baseret paa Undersøgelser over andre biologiske Forhold vedrørende Gonokokker, der flygtigt berører Spørgsmaalet om Gonokoktyper. Men det er først i det sidste Par Aar at der fra forskellig Side er rettet systematiske Undersøgelser direkte mod dette specielle Afsnit af Gonokokkens Biologi, og Resul-

taterne deraf, som senere vil blive omtalt til Sammenligning med mine egne, foreligger først nu omtrent samtidig med Afslutningen af disse Undersøgelser.

Selvom *Torreys* Arbejder, de eneste, hvori Absorption af Antistof er anvendt i Specificeringens Tjeneste og som Følge deraf, som vi senere skal se, de eneste, man overhovedet tør tillægge nogen større Værdi i denne Henseende, selvom de, efter Forfatterens egen Antydning er noget usikre, saa styrker de dog i Forbindelse med de andre Forskeres Resultater og med Undersøgelserne over Antistof i Blodet hos Patienterne Forestillingen om en forskellig Antigenbygning i de fra forskellige Kilder hentede Gonokokker, kort sagt — Muligheden for en Typedeling.

Efter disse indledende Betragtninger skal jeg nu omtale egne Undersøgelser, og i Forbindelse dermed skal diskuteres en Del af de Spørgsmaal, der knytter sig dertil.

GONOKOKIMMUNSERE.

I. *Fremstilling.*

Som en foreløbig Basis for Typeundersøgelserne indsamledes — med ikke ringe Besvær — 25 Gonokokstammer. De rendyrkedes paa Ascitesagar fra lige saa mange Tilfælde af frisk Urethritis hos Mænd.

Stammerne blev betegnet med Alfabetets smaa Bogstaver.

Med hver Stamme fremstilledes et eller flere Immunsere, og disse betegnede med tilsvarende store Bogstaver. I Tilfælde, hvor flere Sera blev fremstillet med samme Stamme, tilføjedes der Serumbogstavet et Tal, der angav vedkommende Serums Nummer i Rækken.

Til Immunisering blev udelukkende anvendt Kaniner, hvis Sera for Immuniseringens Begyndelse prøvedes for Indhold af Normalagglutinin og Normalamboceptor overfor Gonokokker og for »antikomplementær« Virkning i det hæmo-

lytiske System. Fandtes saadanne Egenskaber at være til Stede i Serum, var vedkommende Kanin uanvendelig til de paagældende Undersøgelser.

Efter gennemsnitlig 4 intravenøse Antigeninjektioner med ca. 5 Dages Interval naaede de fleste Kaninsera en for de paagældende Undersøgelser passende »Titer«.

Ved Titeren forstaar vi (*Th. Madsen & Jorgensen*) den reciproke Værdi af »Titerdosis«, som er den mindste Serum-mængde, der giver total Reaktion. Titeren er beregnet pr. 1 cm³ Forsøgsvolumen saavel ved Agglutination som ved Komplementbinding.

Det bekræftedes snart, hvad *Torrey* i 1907 skrev om Immunisering af Kaniner mod Gonokokker, at Immuniseringen forløber højst forskelligt med forskellige Stammer. Nogle Sera naaede hurtigt deres maximale Titer og holdt sig der trods fortsatte Injektioner, andre steg langsomt, og atter andre tabte sig hurtigt.

Til Injektionerne anvendtes Bakteriekultur fra Ascites-agar, suspenderet i fysiologisk Saltvand, og til Bestemmelse af den Kulturmængde hvormed Kaninerne skulde sprøjtes, benyttedes den samme »Kaolinskala« (Suspension af Kaolin i destilleret Vand), som *Ferd. Wulff* anvendte ved sine Undersøgelser over Meningokoktyper. Standardnumrene vil derfor i det følgende være i Overensstemmelse med de af ham benyttede. [1 cm³ Standard 7 = ca. 1800 Millioner Gonokokker.]

Den første Række Kaniner sprøjtedes alle intravenøst efter følgende Skema:

	1 cm ³ Suspension af Standard 7				
(5 Dage senere)	1	»	»	»	6(=2 cm ³ Standard 7)
(5 » »)	1	»	»	»	5(=4 » » 7)
(5 » »)	1	»	»	»	5

thi en Del Undersøgelser over Antistoffernes Udvikling ved aktiv Immunisering af Kaniner mod Meningokokker havde vist, at Maximum af Antistof indtraf i Serum omtrent paa 5. Dag efter en Antigeninjektion.

(Ved Antistoffer forstaas i det følgende kun Agglutininere og komplementbindende Antistof, thi Bestemmelse af Præcipitin, Tropin, Lysin og de øvrige Immunstoffer har vist sig uanvendeligt til det paagældende Formaal).

Paa 5' Dagen efter den sidste Injektion blev Titeren maalt ved Agglutination og Komplementbinding i de resp. Sera med deres homologe Stammer som Antigen, — og den viste sig højst forskellig i de 25 Tilfælde. For nogle Seras Vedkommende var Titeren < 500 , medens den for andre var > 25000 . Nu var det jo en kendt Sag, at nogle Dyr var bedre Antistofdannere end andre, og med samme Ret kunde man derfor — maaske — tilskrive Kaninerne Skylden for disse Variationer, som henføre dem til særlige Egenskaber hos de enkelte Gonokokstammer.

Der udvalgte derfor 2 Stammer nemlig een (h), hvormed der var opnaaet et forholdsvis kraftigt Serum (Titer: 5000), og en anden (s), som kun havde præsteret et svagt Serum (Titer: 500), og med hver af disse 2 Gonokokstammer immuniseredes efter samme Skema som tidligere yderligere 3 Kaniner, hvis Sera efter 4 Injektioner naaede følgende Titer:

H ² (Titer: 12500)	S ² (Titer: 500)
H ³ (» : 5000)	S ³ (» : 1250)
H ⁴ (» : 5000)	S ⁴ (» : 500)

Selvom altsaa Titeren med samme Stamme kan svinge ret betydeligt i de forskellige Dyr, er det dog iøjnefaldende, at nogle Gonokokstammer konstant giver væsentlig kraftigere Immunsera end andre.

Lignende Iagttagelser er forøvrigt gjort i 1921 i nogle af *Cook & Stafford* meddelte Undersøgelser.

Man kan altsaa ikke alene tilskrive Kaninerne Skylden for disse til Tider stærke og til andre Tider svage Immunsera. Og naar vi, i Tilslutning til de tidligere omtalte Undersøgelser over Immunstofs Tilstedeværelse i Blodet hos gonokokinficerede Patienter, udtalte en Formodning om, at næppe alle Gonokokstammer er lige »antigen« virkende (lige antistofinciterende), saa styrkes denne Formodning gennem disse Fund, for saa vidt vi da overhovedet tør indlade os paa at drage Analogislutninger fra Forsøgsdyr til Mennesker.

Var Serums Titer blot 500, blev Dyrene aareladt til døde. Sera blev sterilt afpipetteret, inaktiveret og opbevaret i frosen Tilstand. Laa Titeren under den nævnte Grænseværdi, fik Dyrene atter en Injektion paa 1 cm³ Antigen af Standard 5 og slagtedes en Uge senere — sædvanlig uden at Titeren var steget i den forløbne Tid.

Gennemgaaende taalte Kaninerne godt Immuniseringen, men det var dog hævet over enhver Tvivl, at *en Del Gonokokstammer, nemlig de, der gav den højeste Titer i Serum, samtidig virkede stærkest toxisk paa Dyrene*, thi en betydelig Del, d. v. s. > 50 % af de med disse Gonokokker sprøjtede Kaniner døde inden Immuniseringens Fuldendelse, og den resterende Part afmagredes meget stærkt, inden Dyrene blev aflivet.

Vi skal nu undersøge disse først fremstillede *Immunsera* lidt nærmere, inden vi skrider til deres egentlige Anvendelse.

II. Undersøgelse af Immunsera ved direkte Agglutinationsforsøg.

Serum Titer var som omtalt ret forskellig i de fremstillede Immunsera; men var der andre Egenskaber, hvorved de enkelte Sera skilte sig ud fra hinanden?

Det vilde blive for vidtløftigt i det følgende at fremlægge alle de Forsøg, der blev gjort for at besvare dette Spørgsmaal, men lad os som Repræsentanter udvælge nogle enkelte.

Samtlige Agglutinationsforsøg i Kaninsera blev udtitreret efter følgende Skema:

Kaninim-							Kontrol.
munserum:	0.(0)04	0.(0)02	0.(0)01	0.(00)04	0.(00)02	0.(00)01*)	—
Fysiologisk							
Saltvand:	0.16	0.18	0.19	0.16	0.18	0.19	0.2
Bakteriesus-							
pension af							
Standard 9							
i 0,50/0 Kar-							
bolsaltvand:	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

*) (0) betyder, at Serum er fortyndet $\frac{1}{10}$ før Udtitreringen i Doser: 0.04—0.02—0.01.
(00) — — — — — $\frac{1}{100}$ — — — — — 0.04—0.02—0.01.

Forsøget aflæstes efter 18 Timers Henstand i Termostat ved 56°.

Et Serum D¹, der repræsenterer Størstedelen af de fremstillede Immunsera, agglutinerer de 25 Gonokokstammer paa følgende Maade:

Forsøg:

Agglutination af Gonokokstammerne i Serum D¹.

<i>Serumfortynding:</i>	1/125	1/250	1/500	1/1250	1/2500	1/5000	Kontrol
a	++	++	++	+	(+)	—	—
b	++	++	++	(+)	—	—	—
c	++	++	+	(+)	—	—	—
d	++	++	++	+	(+)	—	—
e	++	++	++	(+)	—	—	—
f	++	++	++	(+)	—	—	—
g	++	++	++	(+)	(+)	—	—
h	++	++	++	—	—	—	—
j	++	++	+	(+)	—	—	—
k	++	++	+	(+)	—	—	—
<i>Suspension af</i> l	++	++	++	(+)	—	—	—
<i>Stammer:</i> m	++	++	++	+	(+)	—	—
n	++	++	++	+	(+)	—	—
o	++	++	++	(+)	—	—	—
p	++	++	++	+	(+)	—	—
q	++	++	++	(+)	—	—	—
r	++	++	++	+	(+)	—	—
s	++	++	+	(+)	—	—	—
t	++	++	+	(+)	—	—	—
u	++	++	++	—	—	—	—
v	++	++	++	+	(+)	—	—
x	++	++	++	+	—	—	—
y	++	++	++	(+)	—	—	—
z	++	++	+	(+)	—	—	—
æ	++	++	+	(+)	—	—	—

++ = Stærk Agglutination

+ = middelstærk —

(+) = svag —

— = ingen —

Som Forsøget viser, finder man en omtrent lige stærk Agglutination af alle Gonokokstammerne. Uden noget nærmere Kendskab til disse og deres Immunsera maatte man herefter hælde til den Anskuelse, at alle Gonokokstammerne

var ens eller i hvert Fald hverandre meget nærstaaende, og at de Immunstoffer, som en enkelt Stamme frembringer, paa det nærmeste var lige reaktionsdygtige overfor alle Stammer.

Allerede *Gruber & Durham* viste imidlertid, at flere tydelig forskellige Vibrioner var »serumidentiske«, medens omvendt Agglutinationen f. Eks. indenfor Arten *Cholera asiatica* var højst forskellig. Den simple Agglutinationsprøve kunde følgelig ikke gælde som noget Kriterium for Artsdiagnose endsige som Maalestok for den finere Uddifferentiering af én enkelt Art. Og for Gonokokkernes specielle Omraade har *Torrey* alt udtrykt det samme ved at sige, at man ikke kan bedømme en Gonokokstammes »absorberende Evne« ud fra dens Agglutinationstiter.

Hvorvidt de enkelte Stammer i Virkeligheden reagerer med det samme Agglutinin i det paagældende Serum (D^1) eller de muligvis reagerer med hver sit, er vi ude af Stand til at afgøre ved Hjælp af den direkte Agglutinationsprøve.

Det følgende Serum F^1 giver straks et ganske andet Indtryk af de paagældende Forhold.

Forsøg:

Serum F¹ agglutinerer Gonokokstammerne saaledes:

Serumfortynding:	1/125	1/250	1/500	1/1250	1/2500	1/5000	Kontrol
a	—	(+)	—	—	—	—	—
b	++	++	++	++	++	(+)	—
c	+	+	—	—	—	—	—
d	(+)	(+)	—	—	—	—	—
e	(+)	(+)	—	—	—	—	—
f	+++	++	++	++	++	+	—
g	+	(+)	—	—	—	—	—
h	++	++	++	++	(+)	—	—
i	(+)	—	—	—	—	—	—
k	(+)	—	—	—	—	—	—
Suspension af Stamme:	l	(+)	(+)	—	—	—	—
m	+	(+)	—	—	—	—	—
n	+	(+)	—	—	—	—	—
o	+	(+)	—	—	—	—	—
p	+	(+)	—	—	—	—	—
q	(+)	(+)	—	—	—	—	—
r	(+)	—	—	—	—	—	—
s	(+)	—	—	—	—	—	—
t	(+)	—	—	—	—	—	—
u	+	(+)	—	—	—	—	—
v	+	+	—	—	—	—	—
x	—	(+)	(+)	—	—	—	—
y	+	(+)	—	—	—	—	—
z	+++	++	++	++	(+)	—	—
æ	++	++	++	++	(+)	—	—

Man ser her en udtalt Specificering, »Særprægning« af Agglutininerne overfor Serums homologe Stamme og overfor nogle ganske enkelte andre Stammer, men det store Flertal af Gonokokstammer har øjensynligt ingen »Receptorer« (*Ehrlich & Morgenroth*), der formaar at knytte sig til de paagældende Agglutininere.

Som Nummer 3 i Rækken skal præsenteres Serum K¹.

*Forsøg:*Agglutination af Gonokokstammerne i Serum K¹.

<i>Serumfortynding:</i>	1/125	1/250	1/500	1/1250	1/2500	1/5000	Kontrol
a	++	++	+	—	—	—	—
b	++	++	+	—	—	—	—
c	++	++	(+)	—	—		
d	++	++	+	—			
e	++	+	+	(+)			
f	++	++	+				
g	++	+	(+)	—	—	—	—
h	++	++	+	—	—		
j	+	+	(+)	—	—		
k	++	+	(+)	—	—		
<i>Suspension af</i> l	++	+	+	—	—		
<i>Stamme:</i> m	++	++	+	(+)	—		
n	++	+	(+)	—	—		
o	++	++	+	(+)	—	—	
p	++	++	+	(+)	—		
q	++	+	+	—	—	—	
r	++	++	+	(+)			
s	++	++	(+)	—			
t	++	(+)	—				
u	++	++	+	—	—	—	—
v	++	+	(+)				
x	++	++	+	(+)	—	—	—
y	++	+	(+)	—	—	—	—
z	++	(+)	(+)	—	—	—	—
æ	++	+	(+)	—	—		

Vi staar her overfor et Serum med en helt igennem lav agglutinatorisk Titer, men kan ikke undgaa at bemærke, at Titeren overfor Serums homologe Stamme er ringere end overfor adskillige heterologe. —

Nu er det jo almindeligt kendt, at Bakteriesuspensionernes Evne til at agglutineres er saare variabel inden for samme Art af Bakterier, ja selv for en og samme Stamme til for-

skellig Tid. Det var derfor muligt — omend usandsynligt, at disse ejendommelige agglutinatoriske Forhold slet ikke hidrørte fra en større eller mindre Overensstemmelse mellem Agglutininet resp. Agglutininerne og de agglutinogene Receptorer, men at de enten var Resultater af en forøget eller nedsat Agglutinabilitet eller beroende paa Aviditetsforskelligheder (*P. Th. Müller*) af Agglutinogenerne i de paagældende Suspensioner, at der med andre Ord i Serum F¹ ikke fandtes flere særprægede Receptorer for den homologe Stamme f end for andre, og at der i Serum K¹ ikke fandtes færre Receptorer for k end for de andre, (hvilket jo i Særdeleshed maatte forekomme besynderligt), men at de paagældende Stammers Agglutinabilitet resp. Aviditet var øget eller nedsat.

Forsøgene blev imidlertid gentaget med Dages Mellemrum og med Aflæsning af Agglutinationerne efter indtil 4 Dogas Henstand ved 56° eller ved Stuetemperatur — stadig med ganske samme Resultat. Og for helt at komme uden om den eventuelle Fejlkilde, som Agglutinabiliteten var, foretoges desuden en Sammenligning af Stammerne i de paagældende Sera ved Hjælp af deres Bindingsevne af Komplementet i et hæmolytisk System — ud fra den Forudsætning, at Resultatet af Komplementbindingen kun afhænger af selve Tilknytningen mellem Antigen og Antistof, men forløber uafhængigt af en stærkere eller svagere Udfældning af Komplekset.

III. *Undersøgelse af Immunsera ved direkte*

Komplementbindingsforsøg.

Hæmolyseforsøgene er udført i de saakaldte » $\frac{1}{10}$ Doser«, d. v. s. i Totalvolumen paa 0.5 cm³, (*Wassermann* benyttede oprindelig 5.0 cm³ i sine Undersøgelser over den serolo-

giske Syfilisreaktion). Udtitreringen er foretaget efter følgende Skema:

Kaninim-						
munserum:	0.(0)04	0.(0)02	0.(0)01	0.(00)04	0.(00)02	0.(00)01
Komplement-						
fortynding:	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
(indeholdende $1.5 \times$ Titerdosis af Komplement.)						
Antigen:	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
(Bakteriesuspension af Standard 10 i fysiologisk Saltvand opvarmet $\frac{3}{4}$ Time til 56°).						

Forsøget henstilles til Binding først $\frac{3}{4}$ Time ved Stuetemperatur saa $\frac{3}{4}$ Time paa Vandbad ved 37° .

Derpaa tilsættes:

Sensibiliserede						
Blodlegemer:	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
(Lige Dele 5% Suspension af Faareblodlegemer og Amboceptorfortynding indeholdende ca. $2.5 \times$ Amboceptortiter).						

Efter yderligere $\frac{3}{4}$ Times Henstand paa Vandbadet er Forsøget færdigt til Aflæsning.

Til Forsøget hører følgende 2 Kontroller:

- 1) Serumkontrol (samme Forsøgsanordning (kun største Serumdosis) med fysiologisk Saltvand 0.2 cm^3 . tilsat i Stedet for Antigen).
- 2) Antigenkontrol (samme Forsøgsanordning uden Serum).

Til Kontrolforsøg sættes kun Titerdosis af Komplement.

Kontrollerne er paakrævet af Hensyn til en eventuel »antikomplementær« Virkning af Serum eller Antigen.

Aflæsning af Forsøgene er foretaget ved Hjælp af den Hæmolyseskala, som i sin Tid blev foreslaaet af *Th. Madsen*.

I omstaaende Komplementbindingsforsøg finder man nu en saa nær Overensstemmelse med Resultaterne af Agglutinationsforsøgene, at man maa opgive Tanken om Stammer-

nes svingende Agglutinabilitet som almengyldig Aarsag til de forskellige Agglutinationsbilleder i de 3 Sera, og tilbage har vi saa kun Antagelsen af forskelligt prægede Receptorer (eller Aviditetssvingninger) og Udviklingen af dertil svarende Antistoffer i de monovalente Immunsæra.

Forsøg:

Direkte Komplementbinding i Sera D^1 , F^1 og K^1 .

	D ¹ (100) ^{a)}						F ¹ (100)					
a	0.	0.	0.	0.	20.	100.	20.	100.	—	—	—	—
b	0.	0.	0.	0.	60.	100.	0.	0.	0.	0.	10.	60.
c	0.	0.	0.	10.	60.	100.	40.	100.	—	—	—	—
d	0.	0.	0.	0.	40.	100.	60.	100.	—	—	—	—
e	0.	0.	0.	0.	60.	100.	40.	100.	—	—	—	—
f	0.	0.	0.	0.	60.	100.	0.	0.	0.	0.	10.	40.
g	0.	0.	0.	0.	20.	100.	60.	100.	—	—	—	—
h	0.	0.	0.	20.	80.	100.	0.	0.	0.	0.	20.	100.
j	0.	0.	0.	20.	80.	100.	100.	—	—	—	—	—
k	0.	0.	0.	10.	60.	100.	40.	100.	—	—	—	—
l ^{*)}	0.	0.	0.	0.	0.	0.	0.	0.	0.	0.	0.	0.
m	0.	0.	0.	0.	20.	100.	40.	100.	—	—	—	—
n	0.	0.	0.	0.	40.	100.	60.	100.	—	—	—	—
o	0.	0.	0.	0.	40.	100.	60.	100.	—	—	—	—
p	0.	0.	0.	0.	20.	100.	20.	100.	—	—	—	—
q	0.	0.	0.	0.	60.	100.	40.	100.	—	—	—	—
r	0.	0.	0.	20.	80.	100.	60.	100.	—	—	—	—
s	0.	0.	0.	20.	80.	100.	80.	100.	—	—	—	—
t	0.	0.	0.	10.	60.	100.	100.	—	—	—	—	—
u	0.	0.	0.	0.	60.	100.	40.	100.	—	—	—	—
v	0.	0.	0.	0.	20.	100.	80.	100.	—	—	—	—
x	0.	0.	0.	0.	60.	100.	20.	100.	—	—	—	—
y	0.	0.	0.	0.	20.	100.	80.	100.	—	—	—	—
z	0.	0.	0.	40.	100.	—	0.	0.	0.	20.	80.	100.
æ	0.	0.	0.	40.	100.	—	0.	0.	0.	0.	60.	100.

	K ¹ (100)						Antigenkontrol
a	0.	0.	0.	20.	80.	100.	100
b	0.	0.	0.	10.	40.	100.	—
c	0.	0.	0.	20.	60.	100.	—
d	0.	0.	0.	10.	40.	100.	—
e	0.	0.	20.	80.	100.	—	-
f	0.	0.	0.	20.	40.	100.	—
g	0.	0.	10.	60.	90.	100.	—
h	0.	0.	0.	20.	80.	100.	
j	0.	0.	10.	40.	80.	100.	60
k	0.	0.	20.	80.	100.	—	60
l*)	0.	0.	0.	0.	0.	0.	0
m	0.	0.	0.	20.	80.	100.	100
n	0.	0.	10.	40.	80.	100.	--
o	0.	0.	0.	20.	40.	100.	-
p	0.	0.	0.	10.	40.	100.	—
q	0.	0.	10.	30.	60.	100.	--
r	0.	0.	0.	20.	60.	100.	—
s	0.	0.	20.	00.	90.	100.	80
t	0.	0.	10.	80.	100.	—	100
u	0.	0.	10.	40.	100.	—	—
v	0.	0.	0.	20.	40.	100.	.
x	0.	0.	0.	10.	40.	100.	—
y	0.	0.	20.	60.	100.	—	—
z	0.	0.	0.	40.	80.	100.	—
æ	0.	0.	0.	40.	80.	100.	—

*) Tallet i () ved Siden af Serumbogstavet angiver Resultat af Serumkontrollen.

*) Totalt egenhæmmende. (Se Antigenkontrol!)

Den direkte Agglutination (resp. Komplementbinding) i disse 3 Sera giver altsaa et Indtryk af, at de Antistoffer som frembringes af de enkelte Gonokokstammer maa være højst forskellige. Thi medens Serum D¹ synes at indeholde omtrent lige meget reagerende Antistof for alle Gonokokstammer og i hvert Fald aldrig mere for nogen heterolog end for homolog

Stamme, saa findes i Serum F¹ Antistof, hvormed kun — eller i hvert Fald saa godt som kun — Serums egen og enkelte andre Stammer reagerer, og endelig med Serum K¹'s Antistof reagerer ganske vist alle Stammer i nogen Grad, men i Mod-sætning til Forholdet ved Serum D¹ reagerer Serums homologue Stamme her tydeligt svagere end adskillige heterologe.

Alle de fremstillede Immunsera giver ved direkte Reaktion et Billede, der er overensstemmende med et af disse 3 — eller svarende til Overgange derimellem.

Med Betegnelser der maaske ikke helt er i Stand til at udtrykke Meningen, har jeg i det følgende benævnt Sera, hvis Reaktionsbillede svarer til Serum D¹'s for »*uspecifike*«, ud fra den Kendsgerning, at disse Sera ikke »specificerer«, d. v. s. ikke »særpræger« nogle Stammer fra andre.

Sera, der ved direkte Reaktion præsenterer sig som Serum F¹, vil ud fra et lignende Synspunkt blive omtalt som »*specifike*«, og Sera af det 3. Reaktionsbillede vil endelig blive betegnet som »*omvendt specifike*«.

Naar Betegnelserne i og for sig ikke er helt klare, saa ligger Grunden dertil i, at man, som det følgende vil vise, i de fleste af vore Immunsera maa skelne mellem forskellige Antistoffer indenfor det enkelte Serum, og at man hidtil — i Almindelighed — har betegnet disse som: 1) *specifike* i Betydningen »særprægede«, »karakteristiske« (Stamme-, Type-?) Antistoffer og 2) *uspecifike* i Betydningen »fællesprægede« (Arts-) Antistoffer. Sikkert er Betegnelserne anvendt over for Immunstofferne lige saa misvisende, thi et fællespræget Antistof er selvfølgelig lige saa specifikt overfor sit Antigen (»Artsantigenet«) som et særpræget Antistof overfor det modsvarende (Stamme-, Type-?) Antigen.

For imidlertid at undgaa Misforstaaelse, vil vi i det følgende ikke anvende Betegnelserne »specifikt« og »uspeci-

fikt« for Antistoffernes Vedkommende, og er man da straks klar over Anvendelsen hér, nemlig kun som Udtryk for Seras *direkte* Reaktionsbillede, saa vil de antagelig næppe vanskeliggøre Forstaaelsen af det følgende.

Leder man Litteraturen igennem, viser det sig, at tidligere Undersøgere har iagttaget de samme ejendommelige Variationer ved direkte Agglutination resp. Komplementbinding inden for de monovalente Gonokokimmunsera. *Torrey* skriver saaledes i sine Undersøgelser over Agglutination og Præcipitation i saadanne Sera, at »nogle Gonokokstammer giver Agglutininere for alle Stammer, medens andre Gonokokstammer giver specifikke Agglutininere«. *Teague & Torrey* skriver, at »som Regel naar et Gonokokserums Titer højst med homologt Antigen, men ingenlunde altid«.

I 1921 fremstillede *Warren* Kaninimmunsera for at undersøge Gonokokkernes Gruppeagglutination, og han bemærker, at »i flere Sera faas omtrent samme Titer med alle de forskellige Gonokokstammer som Antigen. Titeren var væsentlig svagere med Meningokokantigen, og andre Gram-negative Kokker reagerede overhovedet ikke i vedkommende Sera«. Endelig bragte 1921 endnu en Meddelelse om de paa gældende Forhold, nemlig fra *Cook & Stafford*. De havde fremstillet 8 Immunsera med 8 forskellige Gonokokstammer og oplyste, at »de 3 Sera gav lidt stærkere Reaktion med homologt end med heterologt Antigen. Alle Sera reagerede imidlertid med alle Antigener, saa en Klassificering af Gonokokkerne paa Basis deraf var umulig«.

En direkte Klassificering vil i det hele taget kun være mulig i et Serum som det oven omtalte »specifikke«, men — er det muligt at fremstille en Række Sera, der er lige saa »rene« som dette, eller maa vi betragte Serum F¹ som en Tilfældighed — et Naturens Lune?

Trods talrige forskellige Immuniseringsforsøg med forskellige Doser og forskellige Intervaller mellem Injektionerne af disse, trods forskellig Tilberedning af Antigenet (Extrakt, Udvadskning, levende eller dræbt Kultur *) er det ikke lykkedes mig at fremstille et eneste ligesaa »rent« Serum som det paagældende F¹, men jeg har med nogle *Gonokokstammer fremstillet Sera af alle Overgange mellem det rent »specifikke« og de »uspecifikke« Sera, medens mærkeligt nok andre Stammer stadig har givet Sera, der laa mellem de »specifikke« og »omvendt specifikke« Sera.*

Alt i alt kan saaledes kun bekræftes, hvad *Durham* i sin Tid skrev i sine Undersøgelser over Agglutininerne: »*A given race does not necessarily produce the same quantities of the different constituents at different times*«.

ABSORPTIONSFORSØGENE

I 1899 iagttog *Bordet*, at naar *Choleravibrioner* havde været opslemmet i, og derefter var blevet fracentrifugeret et normalt Hesteserum, der oprindelig havde agglutineret baade *Cholera-* og *Tyfusbakterier*, saa havde dette Serum mistet Evnen til at agglutinere *Choleravibrionerne*, medens *Tyfusbacillerne* stadig agglutineredes deri. Med andre Ord, det for *Choleravibrioner* »karakteristiske« Agglutinin var absorberet af og fjernet med disse.

Gennem senere Undersøgelser blandt andet af *Castellani* og *Eisenberg & Volk* har denne Fremgangsmaade — *Absorptionsmetoden* — vist sig frugtbringende til Adskillelse af de for

*) *Bruck* mente i sin Tid at have vist, at immuniserede man *Kaniner* med levende Kultur, fik man stærkt agglutinerende Sera, medens derimod vandige *Ekstrakter* af *Bakterier* fremkaldte de komplementbindende Antistoffer, men ikke Spor af Agglutinin. Tilsvarende Forhold er det ikke lykkedes mig at paavise.

enkelte Arter indenfor en Gruppe (særlig Tyfus-Coligruppen) karakteristiske Agglutininere. Og det næste Skridt blev saa de senere Aars Anvendelse af Absorptionerne til Uddifferentiering af Antistoffer, der var særprægede for enkelte Repræsentanter indenfor en enkelt Bakteriart, — til Typedifferentieringen.

Naar vi nu skulde søge nærmere at gøre Rede for de forskellige Antistoffer, hvis Forekomst i vore Immunsera allerede den direkte Reaktion i disse har bragt Formodning om, saa maa vi tage vor Tilflugt til Absorptionsforsøgene.

I. Uddifferentiering af Agglutininere.

Teknikken ved disse Forsøg skal jeg ikke komme nærmere ind paa her. Den af *Gordon* for Meningokoktypebestemmelserne angivne Teknik har i det store og hele været fulgt, saaledes som den er udførligt beskrevet i *Ferd. Wulff's »Undersøgelser over Meningokoktyper«*.

Til Udgangspunkt for Undersøgelserne over Antistofferne i vore Immunsera kan, grundet paa den talmæssige Overvægt af de »uspecifike« Sera, passende vælges en vilkaarlig Repræsentant for disse — *Serum O²*.

Absorptionsforsøget i dette Serum tager sig saaledes ud:

	O ²						O _a ² *)					
a	++	++	++	++	+	-						
b	++	++	++	+	(+)	-						
c	++	++	++	+	(+)	-						
d	++	++	++	++	+	-						
e	++	++	++	++	(+)	-						
f	++	++	++	++	-	-						
g	++	++	++	++	+	-						
o	++	++	++	++	+	-						

O_b^2						O_c^2					
a	++	++	++	(+)	(+)	—	++	++	++	+	—
b	(+)	—	—	—	—	—	++	++	+	(+)	—
c	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—	—
d	++	++	++	(+)	—	—	++	++	++	(+)	—
e	++	++	++	(+)	—	—	++	++	++	+	—
f	—	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—
g	++	++	++	+	(+)	—	++	++	++	+	—
o	++	++	++	+	(+)	—	++	++	++	+	—
O_d^2						O_e^2					
a	—	—	—	—	—	—	++	++	++	+	—
b	—	—	—	—	—	—	++	++	++	(+)	—
c	—	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—
d	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++	(+)
e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
f	—	—	—	—	—	—	++	++	++	—	—
g	—	—	—	—	—	—	++	++	++	+	—
o	—	—	—	—	—	—	++	++	++	+	(+)
O_f^2						O_g^2					
a	++	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—
b	+	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—
c	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—	—
d	++	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—
e	++	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—
f	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
g	++	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—
o	++	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—
O_o^2						Kontrol					
a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
c	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
f	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
o	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

*) O_a^2 betyder Serum O^2 efter Absorption med Stamme a. Udtitreringerne svarer til de ved direkte Agglutinationsforsøg anvendte.

Som Forsøget viser, staar man her over for et Serum, der kun lader sig »tømme« ved Absorption med egen (homolog) og med enkelte andre Stammer, et Serum, der som Følge deraf maa antages at indeholde 2 Slags Antistof: 1) *Artsantistof* og 2) *særpræget Antistof*, med tilsvarende 2 Slags Receptorer i de Antigener, der ved Absorption formaar at »tømme« Serum, men kun een Slags tilsvarende Receptorer i de øvrige Stammer.

Naar Sera som O^2 , trods deres Indhold af — overfor en Del Stammer — særpræget Antistof, viser sig »uspecifike«, maa i Almindelighed ca. Halvdelen af deres samlede Antistofmængde antages at være *Artsantistof*. I saa Fald vil Titerforskellen med de forskellige Stammer nemlig aldrig kunne overskride 1 Glas — til Tider derimod, som det følgende vil vise, være fuldkommen ens. Og ejheller vil Fjernelse af *Artsantistoffet* fra Serum (ved Absorption med heterolog Stamme) kunne paavirke Titeren for Serums homologe Stamme udover højst et Glas i Udtitreringen. (Alt som Følge af den tidligere omtalte Forsøgsanordning med Udtitrering af Serum i stadig halverede Doser).

Et Eksempel som nedenstaaende vil antagelig lette Forstaaelsen af disse Forhold, og det synes desuden at give en tilforladelig Forklaring paa flere af de ejendommelige Iagttagelser, man vil gøre i et Forsøg som foranstaaende (*Serum O^2*).

Man tænke sig et Serum (XY) indeholdende lige store Mængder af et *Artsantistof* X og et *særpræget Antistof* Y. Det reagerer med sit homologe Antigen (xy) til Titer 5000, med et heterologt Antigen (xz) til Titer 2500. [Antigen (xz) mangler de til Y svarende Receptorer, men har i Stedet for Receptorer z, der er uanvendelige i Serum (XY)].

De direkte Reaktioner tager sig saaledes ud:

(XY)	<	(xy)	++	++	++	++	++	++	(5000 Enheder)
	>	(xz)	++	++	++	++	++	—	(2500 Enheder)

cfr. $O^2 \begin{smallmatrix} <^o \\ >_b \end{smallmatrix}$ (i foranstaaende Forsøg.)

Absorberes Serum med de respektive Stammer, faar man følgende Resultater:

(XY)	<	(xy)	—	—	—	—	—	—	(0 Enheder)
	>	(xz)	—	—	—	—	—	—	(0 Enheder)

cfr. $O^2 \begin{smallmatrix} <^o \\ >_b \end{smallmatrix}$

(XY)	<	(xy)	++	++	++	++	++	—	(2500 Enheder)
	>	(xz)	—	—	—	—	—	—	(0 Enheder)

cfr. $O^2 \begin{smallmatrix} <^o \\ >_b \end{smallmatrix}$

Altsaa: Den homologe Stamme »tømmer« Serum fuldstændig, men den heterologe efterlader Halvdelen, nemlig det særprægede Antistof.

Det blev i det foregaaende nævnt, at selv om Serum indeholdt ca. dobbelt saa meget Antistof for homolog som for heterolog Stamme, var intet til Hinder for, at Reaktionerne (Titeren) — tilsyneladende — faldt ens ud. (Der ses selvfølgelig her ganske bort fra Agglutinabilitetssvingninger o. lign.).

Grunden dertil maa være den, at Forsøgsanordningen (Udtitreringsteknikken) kun kan give Titerværdier: .., 1250, 2500, 5000, 12500, o. s. v.

Har et Serum altsaa i Virkeligheden en Titer paa 10000 for homolog Stamme og 5000 for heterolog Stamme, vil den for begge Stammer aflæses som værende 5000, med mindre man ved Korrektionsforsøg, (Udtitrering med mindre Mølemrum mellem Serumdoserne) nærmere afgrænser Titer-værdierne.

Et saadant *Korrektionsforsøg*, der med størst Nøjagtighed

udfores ved Hjælp af Komplementbindingsmetoden, tager sig f. Eks. ud som følgende:

Ved den direkte Komplementbinding:

C¹—c: 0. 0. 0. 0. 0. 20. 100. — —
 findes en Titer = 2500.

Serum C¹ fortyndes da $\frac{1}{250}$ og udtitreres i følgende Doser:
 0.1 — 0.09 — 0.08 — 0.07 — 0.06 — 0.05

Komplement, Antigen og sensibiliserende Blodlegemer til-sættes som sædvanlig, og Resultatet af Forsøget tager sig saaledes ud:

C¹—c: 0. 0. 0. 0. 10. 20.

Det 4. Glas med 0.07 cm³ af en Serumfortynding $\frac{1}{250}$ indeholder den korrigerede Titer = 3570.

Forestiller man sig nu det omtalte Serum (XY) med korrigeret Titer: 10000 for homolog Stamme (xy), 5000 for den heterologe (xz), saa vil den direkte Reaktion i Serum altsaa præsentere sig ens med de 2 Stammer nemlig:

(XY)	/	(xy)	++	++	++	++	++	++	(10000 Enheder)
	\	(xz)	++	++	++	++	++	++	(5000 Enheder)

cfr. O $\begin{smallmatrix} 2 & \nearrow^o \\ & \searrow_f \end{smallmatrix}$

og efter Absorption med de respektive Stammer saaledes:

(XY)	/	(xy)	—	—	—	—	—	—	(0 Enheder)
	\	(xz)	—	—	—	—	—	—	(0 Enheder)

cfr. O $\begin{smallmatrix} 2 & \nearrow^o \\ o & \searrow_f \end{smallmatrix}$

(XY)	/	(xy)	++	++	++	++	++	++	(5000 Enheder)
	\	(xz)	—	—	—	—	—	—	(0 Enheder)

cfr. O $\begin{smallmatrix} 2 & \nearrow^o \\ f & \searrow_f \end{smallmatrix}$

Man vil altsaa se, at trods det, at Serum indeholder dobbelt saa meget Antistof for homolog som for heterolog Stamme, er det muligt, at Reaktionerne (Titermaalingerne) som

Følge af den anvendte Teknik kan falde ens ud for begge Stammer, og man vil desuden se, at til Trods for at Stammerne — tilsyneladende — reagerer med lige meget Antistof ved den direkte Reaktion, vil den heterologe Stamme ved Absorption — tilsyneladende — intet som helst fjerne af det Antistof, hvormed den homologe Stamme reagerer.

Da vi henregner Sera, hvis Titer med en Del heterologe Stammer angives eet Glas tidligere i Udtitreringen end med den homologe Stamme som Antigen, til de »uspecifike« Sera, vil det desuden fremgaa af det ovenfor omtalte, at saa længe Forholdet:

$$\frac{\text{Antistof for heterolog Stamme}}{\text{Antistof for homolog Stamme}} = \frac{\text{'Artsantistof'}}{\text{Artsantistof} + \text{særpræget Antistof}} > \frac{1}{4}$$

vil Serums direkte Reaktionsbillede være »uspecifikt«.

De fleste »uspecifike« Sera synes ligesom O² at indeholde nogenlunde lige store Mængder af *særpræget Antistof* og af *Artsantistof*. De direkte Reaktioner med forskellige Stammer er ens eller svinger med 1 Glas i Udtitreringerne, og ved Absorptionen synes de heterologe Stammer gennemgaaende at fjerne ca. Halvdelen af det Antistof, hvormed Serums homologe Stamme reagerer.

$$\text{Forholdet: } \frac{\text{Antistof for heterolog Stamme}}{\text{Antistof for homolog Stamme}} = \frac{1}{2}$$

er da det almindelige i disse Sera.

Jo mindre denne Brøk bliver, des mere nærmer det paa-gældende Serum sig Billedet af det »specifike« Serum, og jo større den bliver, des mere »uspecifikt« bliver Serum.

De fortsatte Undersøgelser af vore Immunsera har nu lært os, at man i Virkeligheden træffer Sera af alle Over-gange fra det *rent* »uspecifike« til det *rent* »specifike« Se-

rum. Yderpunkterne skal demonstreres i nedenstaaende Forsøg:

Serum A¹ repræsenterer det *rent »uspecifike«* Serum.

	A ¹					A ¹ _a				
a	++	++	++	+	(+)	—	—	—	—	—
b	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—
c	++	++	++	+	(+)	—	—	—	—	—
d	++	++	++	+	(+)	—	—	—	—	—
e	++	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—
f	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—
g	++	++	++	(+)	(+)	—	—	—	—	—

	A ¹ _b					A ¹ _c					A ¹ _d				
a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
c	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
f	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	A ¹ _e					A ¹ _f					A ¹ _g					Kontrol
a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
c	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
f	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

A¹-a betyder Agglutination (resp. Komplementbinding) af a i A¹

A¹_b-a » » » » » » » »
 efter Absorption med b.

Forsøget viser, at en hvilken som helst Gonokokstamme absorberer alt det i Serum tilstedeværende Agglutinin. Vi

	F_f^1					F_g^1					Kontrol
a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++	—
c	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
f	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++	—
g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Det ses, at kun de 2 Stammer b og f kan »tømme« Serum, medens samtlige andre Stammer *selv direkte* synes saa godt som ude af Stand til at reagere med de i Serum værende Antistoffer. Vi maa altsaa antage, at der i dette Serum saa godt som udelukkende findes et for enkelte Gonokokstammer *særpræget Antistof*, derimod intet — eller i hvert Fald kun et Spor af *Artsantistof*.

Tilbage har vi saa endelig de »*omvendt specifikke*« Sera. Det, der i direkte Reaktionsbillede karakteriserede disse Sera, var, som det vil erindres, den Omstændighed, at Titeren med den homologe Stamme var ringere end med adskillige heterologe. Og det, der ved den nærmere Undersøgelse af Antistofferne gennem Absorptionsforsøgene karakteriserer disse Sera, er det ejendommelige Forhold, at de, som nedestaaende Eksempel viser, ikke lader sig »tømme« af en enkelt Stamme, — end ikke af Serums homologe, — at disse Sera med andre Ord maa indeholde Antistof, hvortil den homologe Stamme mangler tilsvarende Antigenreceptorer, eller i hvert Fald indeholder dem i svagt avid Tilstand.

Serum J^1 demonstrerer Absorptionsforholdene i et saadant »*omvendt specifikt*« Serum.

J^1

a	++	++	(+)	(+)		
b	++	++	++	+	(+)	-
c	++	++	+	-	-	-
d	++	++	++	(+)	-	
e	++	++	++	(+)	-	
f	++	++	++	+	(+)	-
g	++	++	+	(+)	-	
j	++	++	(+)	-	-	

 J_a^1

(+)	-	-	-	-	
++	++	+	-	-	
++	(+)	-	-	-	
++	++	+	(+)	-	
+	+	(+)	-	-	
++	+	+	-	-	
++	++	(+)	-	-	
++	++	(+)	-	-	

 J_b^1

a	++	++	(+)	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	++	+	-	-	-	-
d	++	+	+	(+)	-	-
e	++	++	(+)	-	-	-
f	-	-	-	-	-	-
g	++	++	+	(+)	-	
j	++	+	(+)	-	-	-

 J_c^1

++	++	+	-	-	-
++	++	+	(+)	-	-
(+)	(+)	-	-	-	-
++	+	(+)	-	-	-
++	++	+	-	-	-
++	++	+	-	-	-
++	++	+	(+)	-	-
++	+	+	-	-	-

 J_d^1

a	++	++	(+)	-	-	-
b	++	++	+	(+)	-	-
c	++	+	(+)	-	-	-
d	-	-	-	-	-	-
e	++	+	-	-	-	-
f	++	++	+	-	-	-
g	+	(+)	-	-	-	-
j	++	++	(+)	-	-	-

 J_e^1

++	++	+	-	-	-
++	++	+	(+)	-	-
++	+	(+)	-	-	-
++	+	(+)	(+)	-	-
(+)	(+)	-	-	-	-
++	++	+	(+)	-	-
++	+	(+)	-	-	-
++	++	(+)	-	-	-

 J_f^1

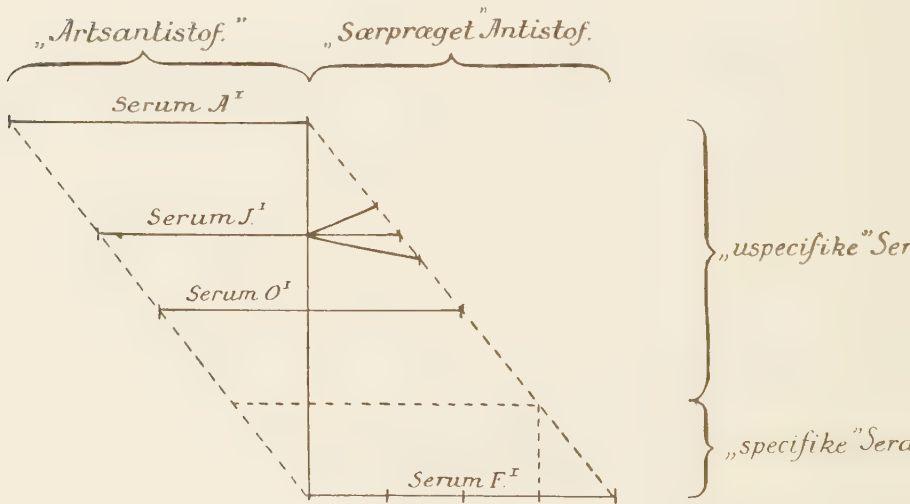
a	++	++	(+)	-	-	
b	+	+	-	-	-	-
c	++	+	(+)	-	-	-
d	++	+	(+)	-	-	-
e	++	++	+	(+)	-	-
f	-	-	-	-	-	-
g	++	++	+	(+)	-	-
j	++	+	(+)	-	-	

 J_g^1

++	++	(+)	-	-	-
++	++	+	+	-	-
++	++	(+)	-	-	-
+	+	(+)	-	-	-
++	+	(+)	-	-	-
++	++	+	(+)	-	-
(+)	-	-	-	-	-
++	++	(+)	-	-	-

			J_j^1				Kontrol
a	(+)	+	+	—	—	—	—
b	++	+	+	—	—	—	—
c	++	(+)	—	—	—	—	—
d	++	+	+	(+)	—	—	—
e	++	+	(+)	—	—	—	—
f	++	+	+	(+)	—	—	—
g	++	+	+	(+)	—	—	—
j	(+)	(+)	—	—	—	—	—

Naar vi til Slut skulde samle de Forestillinger, som de omtalte Undersøgelser har bibragt os med Hensyn til det indbyrdes Forhold mellem de i forskellige Immunsera forekommende Antistoffer, saa tror jeg, at nedenstaaende Figur bedre end Ord vil give et samlet Indtryk af de paagældende Forhold.



II. Betragtninger vedrørende Antistofferne i de fremstillede Immunsera.

For lettere at overskue de forskellige Antigener og Antistoffer, der vil blive omtalt i det følgende, vil disse blive betegnet ved farvelagte Modeller som nedenfor angivet:

	Antigen:	Antistof:
Fællespræget (Arts)		
Særpræget (Type I)		
— (Type II)		
— (Type III)		
— (Stamme)		
Muligt tilstedeværende, men ikke reaktionsdygtigt (svagt avidt)		

At Organismen skulde producere Antistoffer, hvortil det immuniserende Antigen manglede tilsvarende Receptorer, er næppe rimeligt. Vi maa derfor antage, at vedkommende Receptorer enten findes i Antigenet i saa ringe Mængde, at de ikke lader sig paavise ved Absorptionen, eller ogsaa, hvad der maaske er sandsynligere, i saa svagt avid en Tilstand, at de vel formaar at producere Antitof, men ikke at knytte dette saa fast til sig, at Antistoffet lader sig fjerne med Antigenet ved Absorption og Centrifugering.

Jeg søgte at prøve den førstnævnte Mulighed ved *gentagen Absorption*.

Efter den sædvanlige Absorptionstid centrifugeredes j fra J¹, og friskt Antigen j tilsattes til Absorption i det en Gang absorberede Serum. Dette gentoges ialt 4 Gange — uden Forandring i Resultatet, hvad der iøvrigt heller ikke var at vente, eftersom j allerede efter første Absorption ikke agglutineredes mere eller i alt Fald kun reagerede med et Spor af Agglutinin i Serum J¹ (se Forsøg S. 66), og som Følge deraf næppe heller vilde kunne absorbere yderligere.

Den anden Mulighed prøvede jeg gennem Ændring af Teknikken, idet *Absorptionstiden udstraktes over indtil 5 Døgn* dels ved Stuetemperatur og dels ved 56°, — Resulterne blev som før.

Om vi herefter fremdeles vil tale om Aviditetsforskelligheder inden for samme Antigen-Antistofbindinger eller vi vil regne med kvalitative og kvantitative Forskelligheder i Reagererne, bliver vel nærmest en Strid om Ord.

Vi saa, at Serum A¹ (S. 62) kun indeholdt eet Agglutinin, *Artsantistoffet*, som reagerede lige godt med alle Gonokokstammer, og som de alle var i Stand til at absorbere.

Serum A¹ maa altsaa antages at have den mindst sammensatte Bygning, nemlig:



Ud fra lignende Betragtninger er Serum O² bygget:



og iagttager man dette Serum (Forsøget S. 56), bemærkes det, at Stamme a netop er blandt de Gonokokker, der »tømmer« O². Stamme a maa folgelig foruden sit *Artsagglutinen* indeholde *særpræget* »α«-Agglutininogen, som kan absorbere *særpræget* »O«-Agglutinin fra Serum O², men til Trods herfor findes i det med a fremstillede Serum A¹ — intet »O«, eller i hvert Fald findes dette ikke i en saadan Tilstandsform, at det lader sig paavise gennem vore Immunreaktioner.

Til Stamme a:



hører altsaa Serum A¹:



(I andre A-sera saaledes baade i A² og A³ findes det paa-gældende »O«-Antistof derimod reaktionsdygtigt Side om Side med *Artsantistoffet*).

Lad os til Sammenligning betragte Serum F¹. (S. 63). Fra Serum A¹ ved vi, at Stamme f indeholder det for alle

Gonokokker fælles *Artsagglutinogen*. Serum F^1 indeholder derimod kun et for Stamme f og enkelte andre Gonokokstammer *særpræget Agglutinin*, thi de fleste Gonokokstammer kan overhovedet ikke reagere med Antistoffet i dette Serum. Til Stamme f:



hører altsaa Serum F^1 :



Man ser Modsætningen mellem de udviklede Antistoffer; i det ene Serum kun *det særprægede* —, og i det andet kun *Artsantistof*. Men er de 2 Sera A^1 og F^1 end Modsætninger med Hensyn til »Arten« af deres Antistof, saa giver de dog begge Udtryk for en og samme Kendsgerning nemlig, at *et tilstedeværende tydeligt paaviseligt og reaktionsdygtigt Antigen ikke formaar at producere Antistof hos det paagældende Forsøgsdyr, eller i hvert Fald kun producerer det i saa svagt avid en Tilstand, at det ikke lader sig paavise gennem Reaktionen*.

Det sidste af de omtalte Sera J^1 gav os endelig Lejlighed til Iagttagelser, der adskiller sig fra, hvad vi har lært af de tidligere Sera, og paa en Maade er modsat af, hvad disse netop har lært os.

Medens det nemlig før drejede sig om fuldt reaktionsdygtige Antigener, der ikke formaaede at danne tilsvarende Antistof, saa staar vi med Serum J^1 over for den modsatte Kendsgerning — et Serum, hvori forefindes avide reaktionsdygtige Antistoffer, hvortil der, i det til Immuniseringen anvendte Antigen, ikke kan paavises tilsvarende Receptorer.

Til Stamme j:



hører Serum J¹:



Trods monovalent fremstillet optræder Serum J¹ altsaa i Virkeligheden som et polyvalent Serum.

Friedberger & Moreschi opstillede i sin Tid en Teori om 2 Slags Antigener nemlig nogle, der kun formaaede at udvikle Receptorer (i Immunsera) og andre, der kun bandt dem til sig. Ud fra en saadan Hypothese kunde man maaske ogsaa forestille sig Udviklingen af de paagældende Forhold.

Naar nu i Korthed skulde *resumeres*, hvilke Erfaringer vi har høstet af de paagældende Immunsera, saa kan Resultaterne sammenfattes i følgende 7 Punkter:

- 1) Nogle *Gonokokstammer* giver *kraftigere Immunsera end andre*.
- 2) Disse (under Pkt. I nævnte) *Gonokokstammer fremkalder de mest »specifikke« Sera*.
- 3) *Antistofindholdet varierer i monovalente Immunsera fremstillet med en og samme Stamme saaledes, at Serums Antistofbygning ikke kan tjene som Vejledning til Forstaaelsen af den homologe Stammes Antigenbygning — eller omvendt.*

- 4) En Del »*uspecifike*« Sera nemlig saadanne, der kun indeholder »Artsantistof«, er uanvendelige til Typedifferentiering.
- 5) Den direkte Reaktion af forskellige Gonokokstammer i »*uspecifike*« Sera tillader os ikke at drage nogen som helst Slutning med Hensyn til det nærmere eller fjernere Slægtsskab mellem de paagældende Stammer.
- 6) En saadan direkte Reaktion i et »*omvendt specifikt*« Serum vil virke vildledende.
- 7) Kun Absorption i dertil egnede Sera kan give Oplysning om Overensstemmelse i Antigenbygning — om Gonokoktyper.

I sine »Undersøgelser over Meningokoktyper« omtaler Ferd. Wulff (efter Vines.) nogle »hypersensitive« Meningokokstammer, der i fremmed Typeserum agglutineres lige saa stærkt eller endog stærkere end Typestammerne uden at kunne absorbere paaviseligt Antistof overfor disse. Jeg er tilbøjelig til at tro, at det — for i hvert Fald en Del af disse Stammers Vedkommende — ikke har drejet sig om »Hypersensibilitet«, men om en almindelig Agglutination i et »omvendt specifikt« Serum. I hvert Fald har jeg i nyere Undersøgelser over Meningokokker ogsaa der konstateret Forekomsten af slige Sera.

Da mine Undersøgelser paa mange Punkter er parallelt løbende med Ferd. Wulff's, lad mig da til Slut blot tilføje, at naar Wulff meddeler at han ca. hver 3. Maaned maatte fremstille nye Sera, fordi Antistofferne svækkedes, efterhaanden som Sera blev ældre, saa har jeg ikke iagttaget noget tilsvarende ved mine Immunsera. Gennem hele den foreliggende Forsøgsperiode, der strakte sig over mere end 2 Aar, har jeg anvendt de samme Sera, og deres Titer (overfor den homologe Stamme) har ikke vist noget tydeligt Fald.

III. *Absorption af det komplementbindende Antistof.*

I Litteraturen er der til Dato næppe meddelt Tilfælde, hvor Komplementbinding i Forbindelse med Absorption har været anvendt til Typeundersøgelser. Alle saadanne er hidtil foretaget ved Agglutination i Forbindelse med Absorption af Agglutinin, og denne Teknik har staaet sin Prøve gennem det store Antal Typeundersøgelser, der er foretaget, og de smukke Resultater, der er opnaaet derved.

Men det kan ikke nægtes, at Agglutinationen i Almindelighed er en noget ustabil Reaktion, og maaske vil den i Særdeleshed være det overfor den Mikrobart, som vi her beskæftiger os med, — thi Gonokokken er jo, som almindelig kendt, noget slimet i sin Vækst. Fremstillingen af en homogen Suspension til Agglutination volder tit Besvær og kræver megen Tid. I Stedet for den sædvanlige »Udfnugning« ved Agglutinationen samler Gonokokkerne sig ofte paa Bund af Glasset som en slimet, traadtrækkende Masse, der ved Rystning af Glasset rejser sig som et spiralsnoet Legeme fra dettes Bund, og tit og mange Gange har det kompromitteret Aflæsningen af Forsøgene.

Vi har i det foregaaende jævnlig søgt Resultaterne af de direkte Agglutinationsforsøg bekræftet ved Komplementbindinger og, som det vil erindres, i det store og hele med smukt overensstemmende Resultater. Men *hvorledes forholder Komplementbindingerne sig i Forbindelse med Absorptionsforsøg*, — er det muligt at kombinere disse?

Jeg gentog en Del af de tidligere omtalte Absorptionsforsøg, og af omstaaende Forsøg vil det ses, at Resultaterne af Komplementbinding i Forbindelse med Absorption stemmer særdeles smukt overens med de agglutinatoriske. —

Serum A¹ »tommes« for komplementbindende Antistof af enhver Gonokokstamme:

	A ¹ (100)	A ¹ _a (100)	A ¹ _b (100)
a	0. 0. 0. 20. 100. —	100 — —	100 — —
b	0. 0. 0. 60. 100. —	100 — —	100 — —
c	0. 0. 0. 20. 100. —	100 — —	100 — —
d	0. 0. 0. 20. 100. —	100 — —	100 — —
e	0. 0. 0. 40. 100. —	100 — —	100 — —
f	0. 0. 0. 60. 100. —	100 — —	100 — —
g	0. 0. 0. 20. 100. —	100 — —	100 — —

	A ¹ _c (100)	A ¹ _d (100)	A ¹ _e (100)
a	100 — —	100 — —	100 — —
b	100 — —	100 — —	100 — —
c	100 — —	100 — —	100 — —
d	100 — —	100 — —	100 — —
e	100 — —	100 — —	100 — —
f	100 — —	100 — —	100 — —
g	100 — —	100 — —	100 — —

	A ¹ _f (100)	A ¹ _g (100)	Antigen-kontrol.
a	100 — —	100 — —	—
b	100 — —	100 — —	—
c	100 — —	100 — —	—
d	100 — —	100 — —	—
e	100 — —	100 — —	—
f	100 — —	100 — —	—
g	100 — —	100 — —	—

(Tallet i () ved Siden af Serummærket angiver Resultatet af Serumkontrollen).

Serum O² »tommes« af egen og af enkelte andre Stammer:

	O ² (100)	O ² _a (100)	O ² _b (100)
a	0. 0. 0. 40. 100 —	100 — —	0. 0. 40.
b	0. 0. 0. 20. 100 —	100 — —	100. — —
c	0. 0. 0. 40. 100 —	100 — —	0. 0. 10.
d	0. 0. 0. 20. 100 —	100 — —	0. 0. 0.
e	0. 0. 0. 60. 100 —	100 — —	0. 0. 20.
f	0. 0. 0. 20. 100 —	100 — —	80. 100. —
g	0. 0. 0. 20. 100 —	100 — —	0. 0. 0.
o	0. 0. 0. 20. 100 —	100 — —	0. 0. 0.

	O ² _c (40)	O ² _d (100)	O ² _e (90)
a	0. 0. 60.	100 — —	0. 0. 40.
b	0. 0. 10.	100 — —	0. 0. 20.
c	60. 100. —	100 — —	0. 0. 60.
d	0. 0. 20.	100 — —	0. 0. 20.
e	0. 0. 60.	100 — —	80. 100. —
f	0. 0. 0.	100 — —	0. 0. 0.
g	0. 0. 10.	100 — —	0. 0. 20.
o	0. 0. 10.	100 — —	0. 0. 20.

	O ² _f (100)	O ² _g (100)	O ² _o (100)	Antigen- kontrol.
a	0. 0. 20.	100 — —	100 — —	100
b	40. 100. —	100 — —	100 — —	—
c	0. 0. 0.	100 — —	100 — —	—
d	0. 0. 0.	100 — —	100 — —	—
e	0. 0. 0.	100 — —	100 — —	—
f	80. 100. —	100 — —	100 — —	—
g	0. 0. 0.	100 — —	100 — —	—
o	0. 0. 0.	100 — —	100 — —	—

Serum J¹ lader sig ikke »tømme« ved Absorption med en enkelt Stamme — end ikke med j:

	J ¹ (100)	J ¹ _a (80)	J ¹ _b (80)
a	0. 0. 10. 60. 100. —	100. — —	0. 10. 80.
b	0. 0. 0. 40. 100. —	0. 0. 40.	80. 100. —
c	0. 0. 20. 80. 100. —	0. 10. 60.	0. 10. 80.
d	0. 0. 10. 60. 100. —	0. 20. 80.	0. 20. 60.
e	0. 0. 10. 60. 100. —	0. 10. 60.	0. 0. 80.
f	0. 0. 0. 40. 100. —	0. 0. 80.	100. — —
g	0. 0. 20. 80. 100. —	0. 20. 80.	0. 10. 80.
j	0. 0. 20. 80. 100. —	10. 40. 80.	0. 10. 40.

	J ¹ _c (60)	J ¹ _d (80)	J ¹ _e (70)
a	0. 20. 80.	10. 60. 100.	0. 10. 60
b	0. 0. 60.	0. 20. 80.	0. 0. 40.
c	80. 100. —	0. 10. 60.	0. 20. 80.
d	0. 10. 60.	100. — —	0. 10. 60.
e	0. 10. 60.	0. 10. 40.	60. 100. —
f	0. 0. 80.	0. 0. 60.	0. 0. 40.
g	0. 20. 80.	20. 60. 100.	0. 20. 80.
j	0. 10. 30.	0. 10. 50.	0. 10. 30.

	J ¹ _f (80)	J ¹ _g (80)	J ¹ _j (60)	Antigen-kontrol.
a	0. 10. 60.	10. 60. 100.	10. 69. 100.	100
b	20. 80. 100.	0. 10. 60.	0. 20. 80.	—
c	0. 10. 60.	0. 0. 60.	0. 40. 100.	—
d	0. 20. 60.	40. 100. —	10. 60. 100.	—
e	0. 10. 60.	10. 40. 80.	0. 40. 80.	—
f	100. — —	0. 0. 60.	0. 20. 100.	—
g	0. 20. 60.	80. 100. —	10. 40. 80.	—
j	0. 10. 30.	0. 10. 40.	60. 70. 80.	—

Overensstemmelsen med de agglutinatoriske Resultater viser sig altsaa baade ved direkte Komplementbinding og efter Absorption at være overordentlig stor — saa stor, at den styrker en fra forskellig Side hævdet Anskuelse, at de 2

Reaktioner kun er forskellige Udtryksformer for et og samme Antistofs Tilstedeværelse.

Hvorvidt dette nu er Tilfældet eller ej, skal ikke nærmere diskuteres her, men efter endnu ikke offentliggjorte Undersøgelser (*J. R. Mørch*) fra Statens Seruminstitut har det vist sig, at Komplementbindingerne maa opfattes som Udtryk for Tilstedeværelsen af forskelligt thermoresistente Immunstoffer og saaledes som en Funktion dels af Agglutininere dels af Bakteriotropiner og dels af andre Immunstoffer.

Da de Sera, jeg har arbejdet med, alle er »inaktiverede« ved $\frac{1}{2}$ Times Opvarmning til 56° , vil de mest thermolabile af de komplementbindende Antistoffer hovedsagelig være destruerede, medens derimod de mest thermostabile komplementbindende Antistoffer (Agglutininerne!) vil være intakte og reaktionsdygtige.

Dette berettiger altsaa — til en vis Grad — Anskuelsen om de 2 Reaktioner (i vore Undersøgelser) som værende Udtryk for et og samme Antistofs Tilstedeværelse. Men hvad enten det nu drejer sig om et eller flere Antistoffer, saa har vi i Komplementbindingen — kombineret med Absorptionerne — en Forsøgsteknik, der synes fortrinlig egnet til de paa-gældende Undersøgelser. Bør vi da vælge den, eller bør vi holde os til de tidligere gennemprøvede Agglutinationer?

IV. Valg af Methode til Typebestemmelse af Gonokokker.

Det er jo en kendt Sag, hvilken Indflydelse en Stammes Agglutinabilitet har paa Resultatet af et Agglutinationsforsøg og nedenstaaende lille Prøve giver da ogsaa et Bevis for, at Komplementbindingsreaktionen ligger betydeligt fastere.

Forsøg: Paa 3 forskellige Dage med ca. 14 Dages Mellemrum blev gjort en Agglutinations- resp. Komplementbindingsprøve i Serum D¹ med Stamme d.

Resultatet var følgende:

	D ¹ — d:						Kontrol
³ / ₈ —1920.	++	++	++	+	(+)	—	—
¹⁷ / ₈ —1920.	+	+	(+)	—	—	—	—
⁵ / ₄ —1920.	++	++	++	++	(+)	—	—

	D ¹ — d:						
³ / ₈ —1920.	0.	0.	0.	20.	100.	—	Serumkontrol: 100
¹⁷ / ₈ —1920.	0.	0.	0.	20.	100.	—	Antigen — : 100
⁵ / ₄ —1920.	0.	0.	0.	40.	100.	—	

Som nævnt frembød Agglutinationsforsøg med Gonokokker en Del Vanskeligheder. Aflæsningen var noget usikker, dels paa Grund af den noget svingende Agglutinabilitet og dels paa Grund af den spontane Sammenklæbning af Gonokokkerne, og desuden kompromitteredes Forsøget ikke saa helt sjældent af en veritabel Spontanagglutination. Ved den gennemarbejdede Teknik krævedes ret store Kulturmængder til Disposition ved Absorptionen og de efterfølgende Agglutinationer, og Fremskaffelse af disse Kulturmængder vanskeliggjorde ogsaa Gennemførelsen af Forsøget med de paa-gældende Mikrober. Og endelig strakte et Forsøg sig over flere Døgn; ogsaa dette forekom mig at være en Ulempe.

Komplementbindingerne derimod var ikke gennemprøvet, men de indledende Undersøgelser dermed syntes ret lovende. Med den Teknik, som Forsøgene indstilledes paa, lod en Ty-peundersøgelse sig gennemføre paa ca. 4 Timer. Hæmolyse-resultaterne var nøjagtigt og let aflæselige og de Serum- og Kulturmængder, som krævedes til Forsøgene, var meget beskedne i Sammenligning med, hvad Agglutinationerne for-drede — ved den hidtidige Teknik. Kun en Ulempe — den »antikomplementære« Virkning, »Selvhæmningen« — Bin-ding af Komplement direkte til Antigenet eller til Serum

(navnlig efter Absorption i dette) voldte en Del Bryderi. For de allerfleste af *Antigenernes* Vedkommende var denne »*antikomplementære*« *Virkning* dog saa ringe, at jeg kom over den Vanskelighed, de frembød, ved, i Stedet for Titerdosis af Komplement til Forsøgene at anvende 1,5 Gange denne Dosis. — Men selv med dette Overskud var der én af de 25 Stammer (1), der spontant bandt alt Komplementet og et Par enkelte, der gav en partiel Binding (Se Forsøget S. 52).

At det drejede sig om en veritabel Binding af Komplementet til Antigenet fremgik tydeligt nok af følgende *Forsøg*:

I hvert af 2 Reagensglas afmaaltes 2 cm³ af en Komplementfortynding $\frac{1}{10}$. I det ene Glas suspenderedes derpaa Antigen 1 til Tæthed Standard 9, hvorpaa begge Glas henstilledes paa Vandbad ved 37° i $\frac{1}{2}$ Time. Derefter centrifugeredes Glassene haardt, Komplementfortyndingen hældtes fra og udtitreredes som følger:

(*Forsøg »i $\frac{1}{4}$ Doser«*)

Komplementfortynding: 0.3 — 0.25 — 0.20 — 0.18 — 0.16
0.14 — 0.12 — 0.11 — 0.10 — 0.09 — 0.08.

Der tilsattes »sensibiliserede« Blodlegemer, som i Glassene uden tidligere Antigen suspension gav Komplementtiterdosis: 0.08, i det absorberede Komplement derimod en Titerdosis: 0.25. Forsøget viser altsaa, at en ikke ringe Del af Komplementet er bundet til og fjernet med Antigenet.

Denne »selvhæmmende« Stamme var uanvendelig som Antigen i de paagældende Forsøgsrækker. Jeg provede gennem »Forforsøg« at bestemme dens »antikomplementære« Virkningsbredde for muligvis ved Tilsætning af en forøget Mængde Komplement at »neutralisere« vedkommende Antigens kompromitterende Virkning paa Forsøget, men som det vil ses af ovenstaaende, kom man derved op paa saa store

Komplementdoser, at den betydelige Kolloidmængde, der da var til Stede i Forsøget, i sig selv var en Hindring for Komplementbindingen. Der var jo en Mulighed for, at det »komplementmættede« udvadskede Antigen lod sig anvende i Forsøgene, thi efter Absorption af Komplement, Centrifugering, Udvadskning og Opslemning i Saltvand havde Antigen i mistet sin »antikomplementære« Virkning, men — desværre var dets Evne til i Forening med Serums Antistof at binde nyt Komplement samtidig blevet saa svækket, at jeg heller ikke efter den Behandling turde anvende det i Forsøgene.

Ad anden Vej forsøgte det at modvirke Selvhæmmingen i det paagældende Antigen og bl. a. lykkedes det saaledes gennem Opslemning af Antigenet i en 4 %'s Opløsning af »inaktiveret« normalt Marsvineserum, men — ogsaa denne Æggehvidekoncentration kompromitterede Bindingen.

Simpel Udvadskning af Antigen i i fysiologisk Saltvand kunde i Modsætning til, hvad Tilfældet var ved de fleste andre selvhæmmende Stammer, ikke overvinde den Vanskelighed, som vedkommende Stamme frembød for Hæmolyseforsøgene, — men da det som sagt kun drejede sig om denne ene blandt de 25 Stammer (de partielt hæmmende Stammer syntes ikke at vanskeliggøre Aflæsningen af Hæmolysen), syntes den mig ikke at være saa store Anstrengelser værd, — saa meget mere, som den var godt anvendelig til Absorption i andre Sera og derfor sikkert vilde lade sig typebestemme ad anden Vej.

De friske Sera frembød ingen Vanskeligheder for Komplementbindingen, men *ikke saa helt sjældent virkede de absorberede Sera selvhæmmende*. Aarsagen hertil var sikkert at søge i, at der i den til Absorptionen anvendte Kultur fandtes Bakteriepartikler (Autolysater?), som ikke lod sig fjerne fra Serum ved Centrifugeringen, men som i Forening med

Serums Antistof gav en regulær Komplementbinding. Denne Ulempe lykkedes det at komme ud over dels ved til Absorption at anvende unge Kulturer (8 Timer i Termostat) og dels ved før Opslemningen i Serum at udvadske Kulturerne i fysiologisk Saltvand og centrifugere dem; herved fjernedes Autolysaterne med Vadskevandet, det udvadskede Antigen var fuldt ud absorptionsdygtigt og det absorberede Serum virkede ikke »antikomplementært«.

Ved sine Undersøgelser af Meningokoktyperne gjorde *Ferd. Wulff* den Iagttagelse, at en Bakteriesuspension af Standard 6 var for svag til at absorbere et Serum med høj Titer »tomt« i den Fortynding ($1/40$), som han efter engelsk Mønster altid anvendte.

Nu var det mig om at gøre ikke at anvende tættere Suspensioner end højst nødvendigt til Absorptionerne for ikke at faa Autolysat i de absorberede Sera. Jeg gjorde derfor nogle Undersøgelser over den hensigtsmæssigste Absorption og kom til det Resultat, at en *Suspension af Standard 6 var fuldt ud tilstrækkelig til Absorption af et Serum, naar blot dette før Absorptionen var fortyndet saa stærkt, at det pr. 1 cm³ Serumfortynding indeholdt < 125 Antistofenheder*, saaledes at den almindelige Teknik gav en Komplementbinding med højst total Hæmning (0) i tre første Udtitreringsdoser og i hvert Fald partiel Hæmolyse i fjerde.

Fraset et isoleret Tilfælde, hvor en Gonokokstamme har vist saa stærk »antikomplementær« Virkning, at den er uanvendelig som Antigen i det paagældende Forsøg, synes Komplementbindingen altsaa at byde ret store Fordele og først og fremmest de mest konstante Resultater.

Efter den Teknik, jeg har indstillet Hæmolyseforsøgene paa, kræver disse væsentlig mindre Kulturmateriale end Ag-

glutinationerne. Forsøgene er hurtigere, lettere og nøjagtigere aflæselige.

I det følgende vil kun Komplementbindingsforsøg blive anvendt.

V. Forf.'s Teknik til Typebestemmelse.

Den første Betingelse for overhovedet at kunne arbejde med Komplementbindinger er selvfølgelig at have »det hæmolytiske System« i Orden. Den dertil anvendte Teknik, som jeg maa forudsætte bekendt, er udførligt beskrevet i en Del Arbejder fra Statens Seruminstitut saaledes bl. a. af *Oluf Thomsen* i et Arbejde vedrørende den kvantitative Udførelse af Wassermann-Reaktionen (1910).

Naar Systemet er i Orden, bliver Teknikken ved Undersøgelserne over Gonokoktyper da følgende:

(Gennem de tidligere omtalte Undersøgelser har vi sikret os de Immunsæra, der er anvendelige til de paagældende Undersøgelser, og kasseret saadanne, som var ubrugelige dels paa Grund af manglende særpræget Antistof og dels som Følge af i det hele taget for ringe Antistofindhold.)

Ved en direkte Komplementbindingsprøve med Serums homologe Stamme som Antigen bestemmes Serums Titer.

Er denne til Eksempel 2500 giver Serum altsaa en Reaktion som følgende:

(Serum $\frac{\Delta}{10}$ 2: fortyndet $\frac{1}{10}$)						
Serumfortynding:	$\frac{1}{12.5 (\times 10)}$	$\frac{1}{25 (\times 10)}$	$\frac{1}{50 (\times 10)}$	$\frac{1}{125 (\times 10)}$	$\frac{1}{250 (\times 10)}$	$\frac{1}{500 (\times 10)}$
$\frac{\Delta}{10}$ — 2:	0	0	0	0	20	100
	Serum-kontrol.		Antigen-kontrol.			
	$\frac{1}{12.5 (\times 10)}$		—			
	100		100			

For nu at opnaa en sikker og total Absorption med en given Antigendosis (Standard 6) maa Antallet af Antistofenheder pr. 1 cm³ som omtalt være < 125. Derfor fortyndes Serum yderligere med lige Dele fysiologisk Saltvand, og man har et Serum af den ønskede Styrke — altsaa med følgende Bindingsevne:

(Serum $\frac{\Delta}{20}$ o: fortyndet $\frac{1}{20}$)					
Serumfortynding:	$\frac{1}{12,5(\times 20)}$	$\frac{1}{25 (\times 20)}$	$\frac{1}{50 (\times 20)}$	$\frac{1}{125(\times 20)}$	$\frac{1}{250(\times 20)}$
$\frac{\Delta}{20}$ — Ø:	0	0	0	20	100
	Serum-kontrol.		Antigen-kontrol.		
	$\frac{1}{12,5(\times 20)}$		—		
	100		100		

Af denne Serumfortynding afmaales i en Række Dværg-reagensglas 0,25 cm³ i hvert. I det første Glas suspenderes en 16 Timers Kultur af Serums homologe Stamme til en Tæthed af Standard 6. I andet, tredie, fjerde o. s. v. Glas suspenderes de Gonokokstammer, hvis Absorptionsevne man ønsker at prøve — ligeledes til en Tæthed af Standard 6. (Væksten fra et omtrent 2-Øre stort Parti af en Ascitesagaroverflade giver en passende Suspensionstæthed).

Til det sidste Glas i Rækken sættes intet Antigen. (Ud-titrering af Serum fra dette Glas yder den fornødne Garanti for, at det ikke absorberede Serum indeholder en passende Mængde Antistofenheder overfor den homologe Stamme).

Glassene henstilles derefter til Absorption først $\frac{3}{4}$ Time ved Stuetemperatur og saa $\frac{3}{4}$ Time paa Oliebad ved 56°. Herved dræbes de i Serum suspenderede Kulturer samtidig med, at Bindingen finder Sted.

Glassene centrifugeres derpaa kraftigt, og det klare, absorberede Serum hældes fra Antigenet.

Hvert absorberet Serum (og det ikke absorberede Serum) udtitreres i 3 Doser ($0.04 - 0.02 - 0.01 \text{ cm}^3$) hvortil sættes Komplement: 0.1 cm^3 pr. Glas (indeholdende $1.5 \times$ Titerdosis) og Serums homologe Antigen: 0.2 cm^3 pr. Glas.

Forsøget hensættes atter til Binding $\frac{3}{4}$ Time ved Stuetemperatur og $\frac{3}{4}$ Time paa Vandbad ved 37° . Det sensibiliserede Blod (0.2 cm^3 pr. Glas) tilsættes, og efter atter $\frac{1}{2}$ Times Henstand ved 37° er Hæmolysen indtraadt og Forsøget færdigt til Aflæsning.

Som Kontroller til Absorptionsforsøgene kræves følgende:

- 1) *Kontrol med den absorberende Stamme som Antigen* i Stedet for Serums homologe. (Sikring mod en mangelfuld Absorption).
- 2) *Serumkontrol* — med fysiologisk Saltvand i Stedet for Antigen. (Sikring mod »Egenhæmning« af Serum).
- 3) *Antigenkontrol* — uden Serum. (Sikring mod »Egenhæmning« af Antigen).

Alle Kontroller bør vise total Hæmolyse eller i alt Fald i Nærheden af den totale.

Det vilde blive for vidtløftigt i det følgende at anføre samtlige Absorptionsforsøg. Jeg maa derfor indskrænke mig til at anføre en Række Eksempler paa disse og samle Resultaterne af dem alle paa en Tavle.

GONOKOKTYPER.

I. Type I, II og III og Stammer udenfor Typerne.

Det første Serum, der skal betragtes, er A¹, og naar vi udvælger netop dette som Nummer et, er det ikke, fordi vi venter derigennem at kunne uddifferentiere enkelte Stammer fra andre. Vi ved, at Muligheden for noget saadant er udelukket gennem den Mangel paa *særpræget Antistof*, som karakteriserede netop Serum A¹, men — Absorption af det paagældende Serums Antistof tjener som Bevis for, at det er virkelige Gonokokker, vi arbejder med.

Serum A¹ (Fortynding 1/10).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer. (stør- ste Serumdosis.)				Serum kon- trol.	Anti- gen- kon- trol
A ¹ —a	0.	0.	0.20.	100—	100	
a	100	—	—	80	90	100
.	.			.	.	.
.	.			.	.	.
.	.			.	.	.
e	100	—	—	—	—	—
.	.			.	.	.
.	.			.	.	.
.	.			.	.	.

j	100	—	—	—	—	60
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
s	100	—	—	—	—	80
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
v	100	—	—	—	—	100
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
Meningokok (Type A)	0.	0.	10	—	—	—
Meningokok (Type F)	0.	0.	20	—	—	—
Micrococ. catarrh.	0.	0.	0	—	—	—
Diplococ. crassus	0.	0.	0	—	—	—
Streptococcus	0.	0.	0	—	—	—
Staphylococcus	0.	0.	0	—	—	—
Bacillus coli	0.	0.	0	—	—	—
Bacillus Pfeiffer	0.	0.	0	—	—	—

Forsøget viser, at *kun* Gonokokstammer formaar at »tømme« det paagældende Serum og, at Meningokokkerne synes at have lidt mere Affinitet til de paagældende Antistoffer end de andre Bakteriearter. Da Serum A¹ kun indeholder *Artsantistof* og da Meningokokkerne formaar at absorbere ca. Halvdelen af dette, viser Forsøget, at Arten »Meningokok« staar Arten »Gonokok« nær og desuden, at *Artsantistoffet* i vore Sera ikke maa opfattes som en »Enhed«, men som en Kombination af Dele, hvoraf nogle (ca. Halvdelen) er fælles for Meningokokker og Gonokokker.

(Denne Kendsgerning, at *Artsantistof*, resp. *Artsantigen* maa være dannet ved Kombination af *Partial-Artsantistoffer* resp. — *antigener* vil paa de efterfølgende Farvemodeller blive antydet ved en Firedeling af det røde Felt.)

I Modsætning til A¹ viser Serum A², der ogsaa er fremstillet med Stamme a, Indhold af *særpræget Antistof* for Stamme a.

Forsøget med dette Serum tager sig saaledes ud:

Serum A² (Fortynding $\frac{1}{10}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.				Serum kontrol.	Antigen- kontrol.
A ² — a	0.	0.	0.	40.100. —	100	
a	80.100.	—		80	80	100
b	0.	0.	0	.	.	.
c	40.100.	—		.	.	.
d	20.	60.100		.	.	.
e	0.	0.	20	40	40	.
f	0.	0.	0	.	80	.
g	20.	60.100		.	.	.
h	0.	0.	20	.	.	.
j	0.	0.	0	.	.	20
k	0.	0.	0	.	.	100
l	0.	0.	0	40	.	0
m	20.	60.100		30	40	100
n	60.100.	—		80	80	.
o	40.	80.100		.	.	.
p	20.	60.100		.	40	.
q	40.	80.100		.	80	.
r	40.	80.100		.	.	.
s	0.	0.	0	.	.	30
t	0.	0.	10	.	.	40
u	60.100.	—		.	.	100
v	20.	60.100		10	10	.
x	0.	10.	60	60	80	.
y	0.	20.	80	30	60	.
z	0.	0.	20	80	80	.
æ	0.	0.	30	.	.	.

Det ses, hvorledes en Del Stammer ved deres Evne til at

»tomme« Serum over for a adskiller sig fra andre, som mangler denne Egenskab. De absorberende Stammer samler sig med a i en Gruppe, som i det følgende vil blive nævnt som *Type II*.

Det næste Serum B¹ viste følgende Forhold:

Serum B¹ (Fortynding $\frac{1}{40}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.				Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
B ¹ —b	0.	0.	0.20.100.	—	100	
a	0.	0.	20	80	80	80
b	80.100.	—		.	.	.
c	0.	0.	0	.	.	.
d	0.	0.	0	40	.	.
e	0.	0.	0	80	60	.
f	80.100.	—		.	80	.
g	0.	0.	10	.	.	.
h	60.100.	—		.	.	.
j	0.	0.	0	60	.	10
k	0.	0.	0	80	.	80
l	0.	0.	0	.	.	10
m	0.	0.	0	.	.	80
n	0.	0.	20	.	.	.
o	0.	0.	0	.	.	.
p	0.	0.	0	.	.	.
q	0.	0.	0	50	.	.
r	0.	0.	0	80	40	.
s	0.	0.	10	.	80	20
t	0.	0.	0	.	.	60
u	0.	0.	0	.	.	80
v	0.	0.	0	.	.	.
x	0.	0.	0	.	50	.
y	0.	0.	0	40	80	.
z	20.	60.100		80	.	.
æ	20.	60.100		.	.	.

5 Gonokokstammer fjerner saa godt som alt det Antistof, hvormed Serums homologe Stamme b reagerer i det paagældende Serum. Storstedelen af de øvrige Stammer synes overhovedet intet at fjerne. De 5 Stammer samler sig i en selvstændig Gruppe: *Type I*.

Forsøget med Serum D¹ tog sig saaledes ud:

Serum D¹ (Fortynding $\frac{1}{20}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer				Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
D ¹ — d	0.	0.	0.	20. 100. —	80	
a	60.100.100.			80	70	80
b	0.	0.	20	.	.	.
c	40.100. —			.	.	.
d	60.100. —			.	.	.
e	0.	20.100		.	.	60
f	0.	0.	10	.	.	80
g	50.100. —			.	.	.
h	0.	0.	40	.	.	.
j	0.	10.	40	.	50	.
k	0.	10.	40	.	70	.
l	0.	0.	40	20	50	10
m	0.	20.100		0	70	30
n	40.100. —			.	.	80
o	60.100. —			.	.	.
p	40.100. —			.	.	.
q	20.100. —			.	.	.
r	0.	20.100		0	.	30
s	0.	0.	10	30	60	10
t	0.	0.	0	20	70	0
u	0.	20.	40	0	.	80
v	40.100. —			80	.	.
x	0.	0.	0	.	.	.
y	40.100. —			.	.	.
z	0.	20.	40	.	.	.
æ	0.	40.100		.	.	.

Resultatet stemmer i det store og hele overens med det i Serum A² opnaaede. 10 Stammer formaar at »tømme« Serum overfor d, og 6 Stammer fjerner mere end $\frac{3}{4}$ af den samlede Antistofmængde, hvormed d reagerer.

(Til Totalabsorption maa forlanges, at største Serumdosis (efter Absorption) i hvert Fald skal give partiel Hæmolyse, og for overhovedet at kunne regne en Stamme som henhørende til en Type, har jeg vedtaget, at mindst $\frac{3}{4}$ af den samlede Antistofmængde, hvormed Typestammen reagerer, skal kunne fjernes ved Absorption med vedkommende Stamme — med andre Ord, at Reaktionen skal være ændret fra 0.0.0 til 0.).

Serum F¹ (Fortynding $\frac{1}{50}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.				Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
F ¹ — f	0.	0.	0.10.40.100		100	
a	0.	0.	0	100	100	100
b	100.	—	—	.	.	.
c	0.	0.	0	.	.	.
d	0.	0.	0	.	.	.
e	0.	0.	0	.	.	.
f	100.	—	—	.	.	.
g	0.	0.	0	.	.	.
h	100.	—	—	.	.	.
j	0.	0.	0	.	.	60
k	0.	0.	0	.	.	70
l	0.	0.	0	60	.	10
m	0.	0.	0	100	.	100
n	0.	0.	0	.	.	.
o	0.	0.	0	.	.	.
p	0.	0.	0	.	.	.
q	0.	0.	0	.	.	.
r	0.	0.	0	.	.	.
s	0.	0.	0	.	.	70
t	0.	0.	0	.	.	50

u	0. 0. 0	.	.	100
v	0. 0. 0	.	.	.
x	0. 0. 0	.	.	.
y	0. 0. 0	.	.	.
z	60.100. —	.	.	.
æ	50.100. —	.	.	.

Resultatet svarer ganske til det i Serum B¹. Man ser de samme 5 Stammer (*Type I*) som i Serum B¹ skille sig ud her. Forsøget er meget »rent«, idet vi enten finder total Absorption eller — tilsyneladende — overhovedet ingen.

Efter et saadant Resultat at dømme maatte Gonokokstammerne synes at være meget forskelligt prægede. Men som vi allerede har set, og i det følgende vil vise flere Eksempler paa, er Adskillelsen af Stammerne i Sera af andre Typer knapt saa skarp som i disse Sera af *Type I*.

Serum G¹ (Fortynding $\frac{1}{10}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.				Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
G ¹ — g	0. 0. 0.	30.80.100			100	
a	40. 80.100		80		100	100
b	0. 0. 0		.		.	.
c	20. 60. 90		.		.	.
d	40. 80.100		.		.	.
e	0. 0. 10		.		.	.
f	0. 0. 10		.		.	.
g	80.100. —		.		.	.
h	0. 0. 0		.		.	.
j	0. 0. 0		.		.	.
k	0. 0. 0		.		.	.
l	0. 0. 0		.		.	10
m	20. 60.100		.		.	100
n	0. 0. 0		.		.	.
o	0. 0. 20		0		.	.

p	40. 60. 90	80	.	.
q	0. 0. 40	0	.	.
r	0. 0. 0	80	.	.
s	0. 0. 0	.	.	20
t	0. 0. 0	.	.	30
u	0. 0. 0	.	.	100
v	60. 80. 100	.	.	.
x	0. 0. 0	.	.	.
y	20. 60. 80	40	.	.
z	0. 0. 10	80	.	.
æ	0. 0. 10	.	.	.

Serum G^1 giver, som det vil ses, et Billede af Stammernes Samhørighed, der nogenlunde stemmer overens med, hvad vi fandt med A^2 og D^1 .

Selv om Resultaterne kun er »nogenlunde« overensstemmende, er dette imidlertid, som vi senere skal se, ikke nogen Hindring for, at Stammerne kan være hinanden meget nærtstaaende — næsten identiske.

Foruden de »rene« Absorptioner, Totalabsorptionerne, som f. Eks. G_a^1 og G_d^1 i ovenstaaende Serum, finder vi i dette, og forøvrigt med de fleste Sera, enkelte »urene«, tvivlsomme Forsøg, hvori enten Absorptionen af en eller anden Grund har været ufuldstændig, hvori Antigenet virker lidt »selvhæmmende« eller, hvori det absorberede Serum virker »antikomplementært«. I Tilfælde som G_o^1 og G_q^1 virker den mangelfulde Absorption saa forstyrrende, at man nødsages til at gentage Forsøget for disse Stammers Vedkommende. I andre Tilfælde som D_r^1 og D_m^1 er Absorptionerne, trods mangelfulde dog saa gode, at vi uden Gentagelse af Forsøget tør klassificere Stammerne.

Serum K^1 viste sig ved Serumundersøgelsen at høre til de »omvendt specifikke.« (Se Side 48.) Absorptionerne i det forholder sig paa følgende Maade:

Serum K¹ (Fortynding $\frac{1}{10}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.		Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
K ¹ — k	0. 0. 10.80.100. —		100	
a	0. 10.100	70	60	100
b	0. 10. 60	.	.	.
c	0. 20. 40	.	.	.
d	0. 10. 60	.	.	.
e	0. 20. 40	.	.	.
f	0. 10. 20	.	.	.
g	0. 10. 60	.	.	.
h	0. 10. 40	.	.	.
j	60.100. —	.	.	.
k	70.100. —	.	.	.
l	20. 40.100	20	.	40
m	0. 10. 40	.	.	100
n	0. 10. 20	.	.	.
o	0. 10. 60	.	.	.
p	0. 20. 40	.	.	.
q	0. 20. 40	40	20	.
r	10. 30. 80	70	60	.
s	10. 60.100	.	.	70
t	70.100. —	.	.	60
u	0. 10. 40	.	.	100
v	0. 20. 60	.	.	.
x	0. 20. 60	.	30	.
y	0. 10. 60	.	60	.
z	0. 10. 10	.	40	.
æ	0. 10. 10	.	40	.

En Del Stammer skiller sig ud fra Resten. Selv om Absorptionen for Stamme l's Vedkommende ikke er total, kan der næppe være Tvivl om, at den hører ind under samme Type som k. Thi Størstedelen af Antistoffet er fjernet overfor k og med den resterende Del reagerer Antigen l lige saa godt som

Antigen k. Absorptionen har altsaa ikke været fuldkommen. Antigen k er af den Slags, hvormed det har været vanskeligt at fremstille Sera af den ønskelige Styrke. Man ser da ogsaa, at Reaktionen: K¹—k knap er saa stærk, som den burde være. De absorberende Stammer samler vi under Betegnelsen: *Type III.*

Serum O¹ (Fortynding $\frac{1}{20}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.			Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
O ¹ — o	0.	0.	0. 10.60.100	100	
a	0.	40.	80	50	100
b	0.	20.	80	70	.
c	20.	60.	100	60	.
d	40.	70.	100	50	.
e	0.	10.	60	20	.
f	0.	0.	0	80	30
g	10.	40.	80	60	.
h	0.	0.	0	80	.
j	0.	0.	0	80	80
k	0.	0.	0	80	100
l	0.	10.	40	70	80
m	20.	60.	100	20	.
n	0.	0.	10	0	10
o	50.	80.	100	50	.
p	60.	80.	100	80	70
q	40.	60.	100	80	50
r	20.	40.	80	80	40
s	0.	0.	0	40	50
t	0.	0.	0	30	60
u	10.	40.	80	40	30
v	40.	60.	100	50	60
x	0.	0.	0	10	30
y	0.	0.	0	0	0
z	0.	10.	60	30	30
æ	0.	10.	40	20	40

Et noget »urent« Forsøg. De absorberede Serumprøver er mere eller mindre selvhæmmende og selve Absorptionen for en Del Stammers Vedkommende mangelfuld. Det maa desuden bemærkes, at til Trods for, at Antigenet for flere Stammers Vedkommende virker stærkt »antikomplementært«, kommer denne Virkning ikke frem ved Tilstedeværelsen af Serum. (Se saaledes Absorption med l, og de tilhørende Kontroller).

Bindingen med Antigen n viser sig derimod her som en ren Serumhæmning, — altsaa antagelig forarsaget af Autolysater i den absorberende Stamme.

Serum T¹ (Fortynding $\frac{1}{10}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.			Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
T ¹ — t	0.	0.	0. 60. 100. —	100	
a	0.	20.	60	40	90
b	0.	40.	80	60	.
c	0.	10.	40	.	.
d	0.	20.	80	.	.
e	0.	0.	20	.	.
f	0.	0.	20	.	.
g	0.	10.	30	10	.
h	0.	0.	40	60	.
j	10.	30.	80	40	.
k	0.	20.	60	60	.
l	10.	30.	50	20	10
m	0.	20.	60	60	90
n	0.	20.	60	20	.
o	0.	10.	40	60	.
p	0.	20.	50	.	.
q	0.	10.	60	10	.
r	0.	30.	70	60	.
s	20.	80.	100	.	10
t	80.	100.	—	.	50

u	0. 10. 20	.	.	90
v	0. 20. 40	.	.	.
x	0. 10. 10	.	40	.
y	0. 10. 60	.	60	.
z	0. 20. 40	.	.	.
æ	0. 20. 50	.	.	.

Serum T¹ viste sig ved direkte Agglutination og Komplementbinding at maatte henregnes blandt de Sera, vi i det foregaaende har betegnet som »*omvendt specifikke*«. Som i det allerede præsenterede K¹, vil det ogsaa her bemærkes, at de fleste Ikke-Typestammer absorberer op imod de $\frac{3}{4}$ af de Antistoffer, hvormed den homologe Stamme reagerer. Mængden af de *særprægede Antistoffer* over for denne er altsaa forholdsvis ringe i Sammenligning med, hvad vi har set inden for andre Sera. Til Gengæld ved vi, der i mange af disse Sera findes Antistoffer, der ikke reagerer med den homologe Stamme, men kun med heterologe.

Serum V² (Fortynding $\frac{1}{10}$).

		Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.	Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
V ² — v	0. 0. 0. 10. 40. 100		100	
a	0. 20. 80	80	80	80
b	0. 0. 60	.	.	.
c	10. 40. 80	.	.	.
d	20. 40. 80	.	.	.
e	0. 0. 20	.	.	.
f	0. 0. 10	.	.	.
g	40. 80. 100	.	.	.
h	0. 0. 10	.	.	.
j	0. 0. 0	.	.	.
k	0. 0. 0	.	.	40
l	0. 0. 20	60	.	0
m	0. 20. 60	80	.	80

n	40. 80.100	.	.	.
o	60. 80.100	.	.	.
p	80.100. —	.	.	.
q	80.100. —	.	.	.
r	0. 10. 60	.	.	.
s	0. 0. 10	.	.	10
t	0. 0. 20	.	.	20
u	0. 0. 10	.	20	80
v	80.100. —	.	.	.
x	0. 0. 0	.	.	.
y	40. 60. 80	.	.	.
z	0. 0. 20	.	.	.
æ	0. 0. 40	.	.	.

Resultaterne ses atter her at stemme nogenlunde overens med de, der fremgik af Sera A², D¹, G¹, o. s. v.. Stamme v hører altsaa til samme Type.

Serum X¹ (Fortynding 1/80).

X ¹ — x	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.				Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
	0.	0.	0.10.30.100			
a	0.	0.	0	70	60	100
b	0.	0.	0	.	.	.
c	0.	0.	0	.	.	.
d	0.	0.	0	.	.	.
e	0.	0.	0	.	.	.
f	0.	0.	0	.	.	.
g	0.	0.	0	.	.	.
h	0.	0.	0	.	.	.
j	0.	0.	0	.	.	.
k	0.	0.	0	.	.	.
l	0.	0.	0	.	80	10
m	0.	0.	0	.	40	100
n	0.	0.	0	.	.	.
o	0.	0.	0	.	.	.

p	0. 0. 0	.	80	.
q	0. 0. 0	.	60	.
r	0. 0. 0	.	.	.
s	0. 0. 0	.	.	20
t	0. 0. 0	.	.	30
u	0. 0. 0	.	.	100
v	0. 0. 0	.	.	.
x	80.100. —	.	40	.
y	0. 0. 0	.	60	.
z	0. 0. 0	.	.	.
æ	0. 0. 0	.	.	.

Serum X¹ er Eksempel paa et Serum, som kun kan absorberes »tomt« af sin egen Stamme, og hvorfra samtlige andre Gonokokstammer i hvert Fald ikke kan fjerne Halvdelen af det Antistof, hvormed x reagerer.

Serum Z¹ (Fortynding $\frac{1}{40}$).

	Kontrol med Antigen af absorberende Stammer.			Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
Z ¹ — z	0. 0. 0	10.30.100		100	
a	20. 40. 80	40	80	100	
b	20. 40. 80	60	.	.	
c	10. 30. 80	20	.	.	
d	30. 60. 90	80	.	.	
e	30. 60. 90	.	.	.	
f	10. 20. 40	.	.	.	
g	40. 80.100	.	.	.	
h	0. 20. 60	.	.	.	
j	0. 0. 20	.	.	.	
k	0. 0. 40	.	.	.	
l	0. 20. 60	60	.	40	
m	20. 40. 80	80	.	100	
n	40. 60. 90	.	.	.	
o	60.100. —	.	.	.	
p	0. 0. 40	0	.	.	

q	20. 40. 80	80	.	.
r	20. 40. 80	.	.	.
s	0. 10. 40	.	.	50
t	0. 0. 30	.	.	60
u	10. 30. 60	.	.	100
v	10. 20. 40	20	.	.
x	0. 0. 20	80	.	.
y	0. 20. 60	.	.	.
z	60. 80.100	.	.	.
æ	80.100. —	.	.	.

Efter de tidligere viste Forsøg kan der ikke være Tvivl om, at Gonokokstamme z maa være samhørende med b, f o. s. v. Stammerne i *Type I*, men den optræder her med et Serum, hvis »karakteristiske« Antistoffer kun er svagt udtalt. Den danner, som det iøvrigt ogsaa fremgaar af en Række andre Forsøg, en Overgangsform mellem 2 Typer, (*I og II*), og den har i Z^1 præsteret et Serum, der nærmest maa karakteriseres som »uspecifikt«, i hvert Fald saa svagt uddifferentieret, at det maa anses for ubrugeligt til de paagældende Undersøgelser.

Disse Eksempler turde være tilstrækkelige til at give et Indtryk af, hvorledes Absorptionsforsøgene tager sig ud. Resultaterne af samtlige Forsøg er at finde i omstaaende Tavler I. og II. Paa den første af disse (*Tavle I*) findes Forsøgene sammenstillet i alfabetisk Orden, d. v. s. i den Rækkefølge, hvori Undersøgelserne blev foretaget, og paa *Tavle II* er Stammer og Sera grupperet i en Orden, der paa en lettere overskuelig Maade viser Stammernes Fordeling indenfor Typerne.

En nærmere Betragtning af disse Tavler vil vise, at 23 af de 25 Gonokokstammer lader sig indordne under en af 3 Grupper. Den største af disse, i det foregaaende kaldet *Type II*, repræsenteres af de 13 Stammer:

a. c. d. g. m. n. o. p. q. r. u. v. y.

den anden Gruppe — *Type I* — af 5 Stammer:

b. f. h. z. æ.

og den tredie Gruppe — *Type III* — ligeledes af 5 Stammer:

j. k. l. s. t.

Tilbage bliver de 2 Stammer e og x, der tilsyneladende staar uden nærmere Tilknytning til nogen af de 3 Typer. Vi skal senere se, om der alligevel kan spores nogen Forbindelse mellem disse Stammer og Typerne, med andre Ord om Stammerne e og x er at henregne som »atypiske« Type-stammer eller om de maaske er Repræsentanter for nye Typer, som ikke er yderligere repræsenteret i det foreliggende Materiale. Men lad os foreløbig se paa, hvad Undersøgelserne har lært os om Gonokoktyper og om det indbyrdes Forhold mellem de enkelte Type-stammer.

Undersøgelserne har lært os, at *Gonokokker lader sig inddele i mindst 3 serologiske Typer.*

Den største af disse repræsenteres i vort Materiale af ca. 50 % af samtlige Stammer.

Gennemgaar man Tavlerne, viser det sig imidlertid, at selv om disse 13 Stammer er hinanden nærstaaende, saa er de dog alle indbyrdes forskellige.

II. Betragtninger vedrørende »Slægtskabet« mellem Gonokok-stammer af samme Type.

I et Serum som f. Eks. D¹, der paa det nærmeste »tømmes« over for d af en hvilken som helst Type-stamme, er en saadan indbyrdes Forskel mellem Type-stammerne kun svagt at spore. I Serum G¹ er den derimod iøjnefaldende, idet nogle Type-stammer »tømmer« dette Serum over for g, medens andre tilsyneladende lader det urørt, d. v. s. kun fjerner *Artsan-*

T A V L E I.

SERA:

	A ²	B ¹	C ¹	D ¹	E ¹	F ¹	G ¹	H ¹	J ¹	K ¹	M ²	N ²	O ¹	P ²	Q ¹	R ¹	S ¹	T ¹	U ¹	V ²	X ¹	Y ¹	Z ¹	E ¹	
a	+	+	(+)	+	(+)	-	+	(+)	(+)	-	+	+	(+)	+	+	+	+	-	-	-	(+)	-	(+)	+	-
b	-	-	-	-	(+)	+	-	+	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
c	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
d	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	(+)	(+)	+	(+)	(-)	(+)	-	-	-	-	+	-	+	+	(+)
e	-	-	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
f	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
g	+	-	(+)	+	-	-	+	-	-	-	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	+	-	+	+	-
h	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+
j	-	-	-	-	(+)	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)(+)	-	-	-	-	-	-	-
k	-	-	-	-	(+)	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
l	-	-	-	-	(+)	-	-	-	+	(+)	-	-	(+)(+)	(+)	-	-	-	+	(-)	-	-	-	-	(-)	-
m	+	-	+	(+)	-	-	+	-	(+)	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	(+)	-	+	+	+
n	+	-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	+	-	(+)	+	-
o	+	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	+	(+)	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
p	+	-	(+)	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	+	-	+	+	+
q	+	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	(+)(+)	+	+	(+)	+	+	(+)	-	-	-	+	-	+	+	-
r	+	-	+	(+)	(+)	-	-	-	-	(+)	+	+	+	(+)(+)	+	+	+	-	-	-	(+)	-	(+)	+	-
s	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	(+)	-
t	-	-	-	-	(+)	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
u	+	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	(+)	-	-	-	-	-	+	-	-	(+)	+	+
v	+	-	(+)	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
x	(+)	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	(+)	-
y	(+)	(+)	+	+	-	-	+	+	-	+	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	(+)	-
z	-	+	(+)	(+)	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	(+)(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	+	-	+	(+)	+
æ	-	+	-	(+)	-	+	-	(+)	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	+	+

ANTIGENER:

+ = fuldstændig Absorption.

(+) = $> 9/4$ Absorption.- = ingen eller $< 9/4$ Absorption.

TABLE II.

SERA:

	A ²	C ¹	D ¹	M ²	N ²	O ¹	P ²	Q ¹	R ¹	V ²	Y ¹	G ¹	U ¹	Z ¹	E ¹	B ¹	F ¹	H ¹	J ¹	K ¹	S ¹	T ¹	E ¹	N ¹
a	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	+	-	+	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	(+)	-
c	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
d	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	+	+	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
m	+	+	+	+	-	+	+	-	-	(+)	+	+	-	+	+	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-
n	+	+	+	-	+	-	-	(+)	(+)	+	(+)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-
o	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
q	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
r	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-
v	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
y	(+)	(+)	+	+	(+)	-	(+)	+	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
g	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
u	+	-	(+)	-	-	-	(-)	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
z	-	(+)	-	(+)	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	+	(+)	+	+	(-)	-	-	-	-	(-)	-
w	-	(+)	-	(+)	-	(+)	(-)	-	-	-	-	(-)	-	-	(+)	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	(+)	-
f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
j	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
k	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
l	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-
s	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
e	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
x	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-

ANTIGEN:

tistoffet og Typeantistoffet, men lader et for Stamme g særpræget Antistof intakt.

Efter vort Kendskab til de monovalent fremstillede Type-sera maa vi nu imidlertid tilstaa, at selv om man træffer saa varierende Absorptionsforhold i de 2 Sera D^1 og G^1 , er der intet til Hinder for, at de 2 Stammer d og g kunde være ens bygget. Vi har jo nemlig set Eksempel paa, hvorledes 2 Sera fremstillet med én og samme Stamme kan vise ganske forskellig Komplementbinding med denne som Antigen, efter at Sera er absorberet med en Række Stammer. Jeg skal i denne Forbindelse blot minde om de 2 Sera A^1 og A^2 , om — hvorledes det førstnævnte (A^1), der maatte antages kun at indeholde det for alle Gonokokstammer fælles *Artsantistof* lod sig »tømme« af en hvilken som helst Gonokokstamme over for a, medens det sidstnævnte (A^2) fremstillet med samme Stamme a var præget af de for *Type II* »karakteristiske« Antistoffer og derfor kun kunde »tømmes« af Typestammer.

I Overensstemmelse hermed var det muligt, at de 2 Sera D^1 og G^1 efter Absorption med fremmede Stammer kunde vise forskellig Komplementbinding med to ganske ens Stammer d og g som Antigen, saafremt det ene Serum — in casu G^1 — indeholdt mere Antistof (flere Partialantistoffer) svarende til Stammerne d og g's Receptorer end det andet.

Naar man imidlertid som her — i et og samme Serum G^1 — finder snart total og snart — tilsyneladende — ingen Absorption af fremmede Stammer, saa kan dette kun tydes ved Antagelsen af forskelligt (kvalitativt forskelligt eller avidforskelligt) Antigenindhold i Stammerne.

Altsaa: 2 Stammer, der absorberer ens i et Serum, kan være ens bygget — behøver dog ikke at være det; men 2 Stammer, der absorberer forskelligt i samme Serum, kan ikke være ens.

I det foregaaende blev omtalt, hvorfor man maatte forestille sig en Typestammes Antigenbygning sammensat af et *Artsantigen* og et *Typeantigen*. Det er ligeledes omtalt, at en Del Stammer maa antages yderligere at indeholde *Stammearterantigener*, og at alle disse »Partialantigener« kun delvis eller maaske slet ikke kommer til Virkning ved Antistofdannelsen.

Tænker man sig en *Type II* Stamme af følgende Bygning:



og fremstiller man med denne Stamme 2 Immunsera, vil man muligvis faa et af Bygning:



altsaa et »rent« Typeserum, og et andet:



der foruden Artsantistof og Typeantistof indeholder et (reaktionsdygtigt) »stammesærpræget« Antistof: α .

Absorberes nu det første af disse Sera med Typestammerne, vil de alle »tomme« det, men kun de Typestammer, som foruden Arts- og Typeantigen indeholder Antigen α , vil kunne »tomme« det sidste Serum.

Ved Absorption i Sera D^1 og G^1 finder man netop saadanne Forhold. D^1 »tømmes« af alle Typestammer, medens kun enkelte af disse »tømmer« G^1 . Serum G^1 indeholder alt-

saadanne, der kun indeholder *Arts-* og *Typeantigen* til saadanne, der desuden præges af en Række andre Antigener, *Stammeantigener*. Disse maa, i hvert Fald for en Dels Vedkommende, være Partialantigener inden for de, andre Typer prægende Antigenkomplekser, — men herom senere.

d og g er 2 i Henseende til Antigenbygning hverandre meget nærstaaende Stammer, men — ens er de ikke, thi d indeholder foruden alt andet Antigen noget, hvormed den kan binde en væsentlig Del af det for æ i Serum Æ^1 værende Antistof — og tilsvarende Antigen findes ikke i g.

Stammerne m og p er ogsaa nærstaaende. De tilhører samme Type og »tømme« hverandres Sera, men medens p bl. a. i Sera N^2 , Q^1 og R^1 formaar at fjerne alt eller saa godt som alt det Antistof, hvormed n, q og r reagerer i disse Sera, mangler m øjensynligt Receptorer til Forening med disse Antistoffer (se *Table II*). p indeholder altsaa flere fælles Receptorer med de paagældende 3 Stammer end m — vel at mærke over for de 3 nævnte Sera — thi sandsynligvis vil i andre Sera Forholdet vendes om. Eksemplet herpaa finder vi netop i Serum Z^1 , hvor m har fælles Receptorer med n, q og r, medens p mangler saadanne.

Stammer, der som a, d og p formaar at »tømme« et hvilket som helst *Type II-Serum*, maa nødvendigvis være de paa Partialantigener rigeste Stammer. Ejendommeligt er det derfor at se, at netop disse har fremkaldt de mest »typerene«, paa (*Stamme-*) Partialantistoffer fattigste Sera, saadanne — som alle Typestammer kan »tømme«.

Stamme u synes antigenfattig for saa vidt som kun faa Sera »tømmes« af den, men da paa den anden Side kun enkelte Typestammer kan »tømme« Serum U^1 over for u, maa man formode, at u indeholder et eller flere sjældnere forekommende Partialantigener med tilsvarende Antistof i sit

Serum, og at den saaledes danner et Overgangsled til de »atypiske« Stammer, som straks skal omtales.

Inden for *Type II* findes altsaa Stammer saa nærstaaende, at vi knap formaar at skille dem fra hverandre, men paa den anden Side saadanne, som foruden det for Typen »karakteristiske« Antigenkompleks indeholder Antigengrupper (*Stammeantigener*), der fjerner disse Stammer mere eller mindre fra hverandre.

Langt de fleste af de Sera, som er fremstillet med Gonokokstammer af denne Type, har udvist en Antistofbygning af det Præg, som vi tidligere benævnte det »uspecifike«. Noget rent »specifikt« Serum er det ikke lykkedes at fremskaffe, derimod en Del »omvendt specifike«.

Immunsera har gennemgaaende givet en jævnt god Titer efter 4 Injektioner, og disse har som Helhed været taalt godt af Forsøgsdyrene.

Ved Undersøgelserne af vore Gonokok-Kanin-Immunsera saa vi, at de 5 Stammer: b., f., h., z., æ. maatte have Receptorer svarende til Antistoffer, som ingen andre blandt Gonokokstammerne havde Receptorer for. Og Absorptionsforsøgene har siden bekræftet denne Iagttagelse.

Undersøgelserne inden for denne Gruppe — *Type I* — forekommer alle at være »renere« end inden for de andre Grupper. Det synes, som om de paagældende Stammer er særlig stærkt typeprægede, hvad der muligvis staar i Forbindelse med en særlig kraftig Aviditet af de paagældende Typeantigener. De 3 Stammer b., z. og æ. synes desuden at indeholde lidt af det for *Type II* »karakteristiske« Antigen, idet disse Stammer, som det fremgaar af de foranstaaende Tavler, absorberer en væsentlig Del af det i enkelte *Type II* Sera værende Antistof.

Immunsera af *Type I* var gerne af en saadan Antistofbygning, at de laa mellem de rent »specifike« og de »uspecifike« Sera. Et enkelt Serum faldt ud efter Billedet af det »omvendt specifike«, men til Gengæld var jo det eneste rent »specifike« Serum, som det lykkedes at fremstille, nemlig F¹ af denne Type.

Disse Sera var gennemgaaende af høj Titer og Kaninerne var stærkt medtaget af Injektionerne. Mere end 50 % af Dyrene døde inden Immuniseringens Fuldendelse, og Resten afmagredes ganske overordentlig stærkt, inden de blev slagtet.

Der kan ikke være Tvivl om, at Gonokokker af *Type I* er langt mere toksiske for Kaninerne end Gonokokker af den tidligere omtalte *Type II*.

Den tredie Gruppe (*Type III*) repræsenteredes endelig af de 5 Stammer: j. k. l. s. t.

Fra de foranstaaende Forsøg vil det erindres, at det er disse 5 Stammer, som paa Grund af mere eller mindre »antikomplementær« Virkning til Tider og for en enkelt Stamme — l's Vedkommende stadig har kompromitteret vore Undersøgelser med Komplementbindingsmetoden. Stammerne samler sig i den som Type betragtet mindst selvstændige Gruppe, idet Absorptionerne gennemgaaende er ufuldstændige.

Det var forbundet med nogen Vanskelighed at bringe Titeren i Immunsera af *Type III* op paa den Styrke, som var ønskelig af Hensyn til Absorptionerne, men Injektionerne har til Gengæld kun paavirket Kaninerne i ringe Grad, væsentlig mindre end Tilfældet var ved den tidligere omtalte *Type I* og noget ringere end ved *Type II*.

Sera af denne Type laa mellem de »uspecifike« og »om-

vendt specifikke», og adskillige var smukke Repræsentanter for de sidste. De fleste Gonokokstammer (Ikke-Typestammer) formaaede at fjerne op imod $\frac{3}{4}$ af den samlede Antistofmængde fra disse Sera, saa den ringe Mængde *Typeantistof*, som de indeholder, har sikkert bidraget til i nogen Grad at udviske Forskelligheder mellem de Stammer, som er samlet under *Type III*.

III. »Atypiske« Stammer.

Endnu skal omtales de 2 Stammer e og x. At de begge er Gonokokstammer kan der ikke være Tvivl om, da de for det første er rendyrket fra klinisk utvivlsomme Tilfælde, for det andet med Hensyn til Vækst, Forgæringsforhold o. s. v. forholder sig som Gonokokker, og for det tredje fra Serum A¹ absorberer det for alle Gonokokker og kun for saadanne fælles *Artsantistof*. Men vender vi tilbage til *Tavle II* ser vi, at ingen af de 2 Stammer formaar at absorbere noget væsentligt af Antistoffet fra Flertallet af Sera af nogen af de 3 Typer. Det synes, som om e har nogen Forbindelse med *Type II*, thi den formaar at absorbere en væsentlig Del af Antistoffet fra de 3 Sera C¹, D¹ og O¹, og den formaar desuden at »tømme« Serum Z¹, som — trods fremstillet med en Stamme af *Type I* — dog ikke indeholder for denne Type særprægede Antistoffer. (Serum »tømmes« nemlig af de fleste *Type II* Stammer over for z). Men betragter man de forskellige Gonokokstammers Absorptionsevne i Serum E¹ overfor e, saa viser det sig kun at være nogle enkelte Repræsentanter for hver af de 3 Typer, der er i Stand til at absorbere Serum E¹ og endda kun partielt, (d. v. s. i Stand til at fjerne $\frac{3}{4}$ eller mere af Antistoffet for e). Skulde man udtale en Formodning om Stamme e's Bygning, maatte man da efter dens Absorptionsevne nærmest kalde den — en »atypisk« *Type II* Stamme. Hvorledes man iøvrigt maa forestille sig dens Sammensætning, skal vi straks komme tilbage til.

Serum E¹ hører til Gruppen af »*uspecifike*« Sera. Det har en jævn god Titer, og næsten alle Gonokokstammer fjerner mellem Halvdelen og $\frac{3}{4}$ af den samlede Antistofmængde, hvormed e reagerer.

Stamme x kan kun absorbere Antistoffet partielt fra nogle ganske enkelte af de forhaandenværende Sera og overhovedet ingen af vore Gonokokstammer kan absorbere paaviselige Mængder af det Antistof, der i Serum X¹ reagerer med x. Serum X¹ er af høj Titer, reagerer omtrent dobbelt saa stærkt med egen som med fremmede Stammer, og ligger altsaa paa den »rene« Side af det »*uspecifike*« Serum. Stamme x synes saaledes ved første Øjekast at staa de øvrige Stammer endnu fjernere end e, men nedenstaaende lille Forsøg rykker os straks nærmere ind paa Livet af den.

Naar man absorberer Serum X¹ med Blandinger af Stammer inden for de 3 Typer, faar man følgende Resultat:

Som Repræsentanter valgtes:

For Type	I:	b.	f.	h.	z.	æ	
-	-	II:	g.	n.	o.	r.	y.
-	-	III:	j.	k.	l.	s.	t.

Forsøget tog sig saaledes ud:

X ¹ —x	0.	0.	0.	10.30.100
Efter Absorption med: (Type I)	0.	0.	0.	20.40.100
(- II)	0.	0.	0.	40.80.100
(- III)	20.60.100.	—.	—.	—

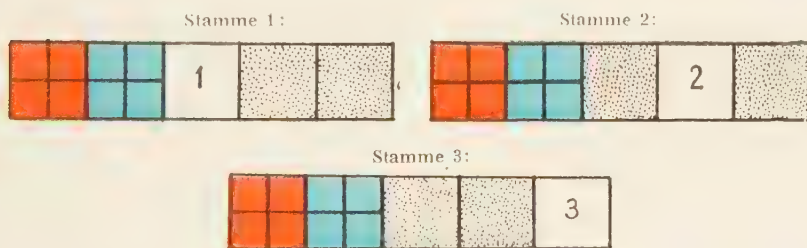
Sandsynligheden taler altsaa for, at Serum X¹ og derigenem Stamme x maa staa *Type III* nær, men hvorledes skal man forklare sig, at x ikke kan »tømme« Sera af *Type III*, medens *Type III* Stammerne i Forening tømmer X¹.

Det forekommer mig, at et Forhold som dette yderligere

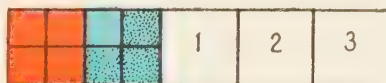
maa komplicere vor Bygningsteori, idet man til dets Forstaaelse nodes til at tænke sig *Typeantigenet* og det tilsvarende *-antistof* ikke som en »Enhed«, men som en Kombination af flere Dele (i Lighed med, hvad vi allerede i det foregaaende har maattet forestille os for *Artsantistoffet*s Vedkommende) (se S. 86), at det *typeprægede Serum* — in casu af *Type III* — altsaa maa være bygget i Overensstemmelse med følgende Model:



Type III Stammerne maa foruden *Artsantigen* og det tilsvarende *Typeantigen* indeholde forskellige *Stammeantigener*, saaledes:



Er Stamme x da bygget:



og Serum X¹:



vil de ovennævnte Forhold netop indtræffe.

Paa lignende Maade maa man tænke sig det for *Type II*

»karakteristiske« Antigen bestaaende af flere Dele, thi der er næppe Tvivl om, at Stammen e indeholder nogle af disse, men ikke dem alle, samt, at den til Gengæld for sine Mangter indeholder Partialantigen — og Serum E¹ tilsvarende Partialantistof, som i hvert Fald yderst sjældent forekommer inden for andre Stammer af den nævnte Type.

Af de omtalte Tavler I og II vil det fremgaa, at ikke alle de Typesera, som viser sig at indeholde *særpræget Typeantistof* over for deres homologe Antigener, er anvendelige i Typeinddelingens Tjeneste; thi medens Sera som A² og D¹ skiller alle Typestammer fra andre, vil f. Eks. Sera G¹ og R² kun skille enkelte saadanne ud fra Resten.

Nu er det jo indlysende, at om disse Typeundersøgelser med Tiden skulde kunne faa praktisk Betydning, saa kan en saadan Sammenligning af Stammerne over for en Række Sera, som vi her har udført dem, ikke lade sig gøre. Gennem et enkelt Serum maa man kunne foretage denne Prøve.

IV. Ændring af Teknik til Typebestemmelse.

Den sandsynlige Grund til de forskellige Resultater, der opnaas med de forskellige Sera (frembragt med Stammer inden for samme Type) er allerede omtalt i det foregaaende, men *hvorledes skaffer man sig bedst et for disse Undersøgelser hensigtsmæssigt Serum og Antigen?*

Det gør man ved at vælge en anden Stamme end Serums homologe som Antigen ved Komplementbindingen (selvfølgelig dog en Stamme af samme Type) — og man gør det med følgende Motivering:

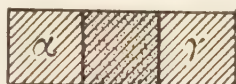
Har man til Eks. en Stamme(γ) af *Type II*, der tænkes at have følgende Bygning:

				α	β	γ

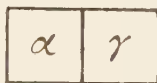
saa er der i alt Fald en ikke ringe Sandsynlighed for, at dens Immunserum (Γ) foruden



vil indeholde Antistof for nogle af de i Stammen værende *Stammeantigener*, f. Eks.



Foretager man nu efter Absorption med en ukendt Stamme en Komplementbinding: $\Gamma - \gamma$, da vil selvfølgelig kun saadanne Stammer, som foruden at være af *Type II*, indeholder Antigen



kunne »tømme« Serum og saaledes være at henregne til samme Type, som den Stamme (γ), der er lagt til Grund for Inddelingen.

Vælger man derimod en anden Stamme som Antigen (selvfølgelig af *Type II*, men en Stamme, der i Absorptions-eyne over for en Række af de forhaandenværende Sera inden for Typen afviger en Del fra Serums homologe), da har man i hvert Fald Mulighed for at gribe en saadan, som kun har



fælles med Serum og som derved giver Mulighed for en renere Udrensning af *Type II* Stammer.

For at overbevise os om Sandsynligheden af denne Teori, gentages en Del af de tidligere Typebestemmelser og nedestaaende Eksempler turde være tilstrækkelige til at bekræfte den.

(Serum P^1 fortyndet $1/20$)

$P^1 - p$	0. 0. 0. 10.40.100	$P^1 - n$	0. 0. 0. 80.100. —
a	10. 50. 80		80.100.
b	0. 0. 10		0. 0. 40
c	0. 10. 30		60.100.
d	0. 20. 60		80.100.
e	0. 0. 40		0. 0. 60
f	0. 0. 10		0. 0. 20
g	20. 60. 80		80.100.
h	0. 0. 20		0. 0. 60
j	0. 0. 0		0. 0. 40
k	0. 0. 10		0. 0. 40
l	0. 0. 20		0. 0. 60
m	60.100. —		80.100. —
n	0. 10. 30		100. —.
o	60.100. —		100. —.
p	80.100. —		80.100. —
q	0. 20. 80		80.100.
r	0. 20. 40		80.100. —
s	0. 0. 10		0. 0. 60
t	0. 0. 10		0. 0. 60
u	0. 20. 60		60.100.
v	60.100. —		100. —.
x	0. 0. 40		0. 0. 80
y	10. 60.100		80.100.
z	0. 20. 60		0. 40.100
æ	0. 10. 60		10. 60.100

(Kontrolforsøg til omstaaende Serum P¹.)

	Kontrol med Antigen af ab- sorberende Stammer.	Serum- kontrol.	Antigen- kontrol.
P ¹		100	
a	80	80	100
b	-	-	-
c	-	-	-
d	-	-	-
e	-	-	-
f	-	-	-
g	-	-	-
h	-	-	-
j	20	40	60
k	60	80	80
l	10	-	0
m	80	-	100
n	-	-	-
o	-	-	-
p	-	-	-
q	-	-	-
r	-	-	-
s	20	20	30
t	40	80	50
u	80	-	100
v	-	-	-
x	-	-	-
y	-	-	-
z	-	-	-
æ	-	-	-

Man finder de samme Typestammer gennem begge Forsøgsrækker, men Rækken til højre (P¹-n) giver utvivlsomt det reneste Resultat.

(Serum T^2 fortyndet $1/10$)

$T^2 - t$	0. 0. 0.40.100.—	T^2-k	0. 0. 0. 20.80.100
a	0. 0. 60		0. 0. 60
b	0. 0. 80		0. 0. 80
c	0. 0. 60		0. 0. 80
d	0. 0. 40		0. 0. 40
e	0. 0. 80		0. 0. 60
f	0. 0. 20		0. 0. 60
g	0. 0. 40		0. 0. 60
h	0. 0. 40		0. 0. 40
j	0. 20. 80		40. 80.100
k	0. 0. 60		80.100. —
l	0. 20. 60		60. 70. 80
m	0. 0. 40		0. 0. 80
n	0. 0. 60		0. 0. 40
o	0. 0. 80		0. 0. 60
p	0. 0. 40		0. 0. 80
q	0. 0. 60		0. 0. 40
r	0. 0. 60		0. 0. 40
s	20. 60.100		80.100. —
t	80.100. —		80.100. —
u	0. 0. 80		0. 0. 60
v	0. 0. 40		0. 0. 40
x	0. 0. 80		0. 0. 40
y	0. 0. 60		0. 0. 60
z	0. 0. 40		0. 0. 40

(Kontrolforsøg til ovenstaaende)

	Kontrol med Antigenafab- sorberende Stammer.	Serum kontrol.	Antigen- kontrol.
T^2		100	
a	60	60	90
b	-	-	-
c	-	-	-
d	-	-	-
e	-	-	-
f	-	-	-

g	-	-	-
h	-	-	-
j	40	40	-
k	-	60	80
l	20	80	20
m	60	60	90
n	-	-	-
o	-	-	-
p	-	-	-
q	-	-	-
r	-	-	-
s	40	60	-
t	-	80	40
u	60	60	90
v	-	-	-
x	-	-	-
y	-	-	-
z	-	-	-
æ	-	-	-

Som i det foregaaende Forsøg ses ogsaa i dette Typerne at træde skarpere og renere frem ved at udføre Typebestemelsen paa den Maade, som det her er angivet.

V. *Findes Gonokokker af forskellige Typer hos samme Patient? — og er Typen konstant?*

Vi har nu set, hvor forholdsvis skarpt det er muligt at skille Gonokokkerne i mindst 3 Typer. Inden vi gennem et udvidet Materiale søger efter eventuelt flere Typer, er der imidlertid et Par Spørgsmaal, vi maa skænke nogle Bemærkninger.

Den første lyder:

Tilhører alle Gonokokker fra samme Patient én og samme Type?

Og det andet:

Er Typen konstant eller varierer den under visse Betingelser?

Den sikreste Methode til Besvarelse af det første Spørgsmaal vilde selvfølgelig være at typebestemme Kulturer udviklet fra en Række enkelte Kim, hentede direkte fra Patienten.

De hidtil kendte Methoder til Rendyrkning fra enkelt Kim har imidlertid alle stillet saa store Krav til Bakteriernes Levedygtighed, at de har været uanvendelige overfor en saa sart voksende Mikrob som Gonokokken.

Jeg udvalgte derfor af de primære Kulturer fra en Række Patienter 5 isolerede Kolonier fra hver og typebestemte hver af disse — altid med samme Resultat. I 2 af de undersøgte Tilfælde var Kulturen »tvetypet« fra alle 5 Kolonier. *Sandsynligheden taler da for, at samtlige Gonokokker fra én og samme Patient bærer Præg af samme Type.*

Paa tredie Aar har jeg en Række Gonokokstammer gaaende, og de bevarer deres Type uforandret. Aldrig har jeg set en Stamme af én Type slaa over til en anden Type. Hos Ægtepar, Kærestefolk og Smaapiger (Søskende) med Vulvovaginitis har jeg — og andre — genfundet samme Type, saa *Sandsynligheden taler ligeledes for, at Typepræget ikke ændres ved Omsaaning fra Individ til Individ.*

Ferd. Wulff fandt lige saa stabile Forhold for Meningokoktypernes Vedkommende, saa selv om der i Litteraturen findes Meddelelser om Overgang af en Bakterietyper til en anden, saaledes én Beretning af *Altmann & Rauth*, der i sin Tid meddelte ét isoleret Tilfælde, hvor det var lykkedes dem

at omdanne én Colitype til en anden ved Passage over Karbolagar — eller *Fildes & Baker*, der mener at have konstateret Overgang in vivo af en Meningokoktype til en anden, eller *Rosenow*, der mener at have paavist Overgang mellem Streptokok- og Pneumokoktyper, saa tror jeg dog, — hvor besynderligt det end maa synes — at den antigene Bygning i Gonokokkerne og i de pathogene Mikrober i Almindelighed, kort sagt *Typepræget er en saa dybtliggende Grundegenskab ved Bakterierne, at det som saa mange andre biologiske Egenskaber er uforanderlig knyttet til Mikrobens Livsfunktioner.*

Hermed afslutter vi saa de indledende Undersøgelser for at fortsætte over et større Materiale. Inden vi imidlertid gaar i Gang med dette, vil vi se, hvorvidt de hidtil opnaaede Resultater stemmer overens med Resultaterne af lignende Undersøgelser, som i den sidste Tid er offentliggjort fra amerikansk Side.

AMERIKANSKE TYPEUNDERSØGELSER.

De amerikanske Undersøgelser, der er udført af *Hermanies*, er anlagt over et Materiale bestaaende af 47 frisk isolerede Gonokokstammer og 38 ældre Stammer (deriblandt de af *Torrey* i sin Tid benyttede). *Hermanies* anvender til sine Undersøgelser den samme Teknik, som alle de tidligere Typearbejder er gennemført med, nemlig Absorption af Agglutinin i Forbindelse med Agglutination af Serums homologe Stamme i det absorberede Serum.

Hermanies indleder sine Undersøgelser med en Del (tekniske) Bemærkninger, der stemmer overens med vore egne. Saaledes erkender ogsaa han, at Absorptionen forløber vanskeligere i et koncentreret Serum end i et fortyndet. Han kasserer derfor de titersvage Sera og forlanger som vi, at Serum i en given Fortynding skal indeholde et vist Minimum af Antistof for at være anvendelig til de paagældende Prøver.

Ved Absorption i et Serum (mrk. I) og paafølgende Agglutination med Stamme I adskiller Forf. straks 41 Stammer, som »tømmer« Serum fuldstændigt eller kun efterladende et Spor, fra Resten, som »intet« fjernede af Serums I's Agglutinin, men som til Tider endog »øgede« Titeren. De 41 Stammer samledes i Type I.

Sera fremstillet med andre Type I Stammer gav tilsvarende Resultater.

»Ingen Stamme af Type I fjernede Agglutininet fra et Se-

rum fremstillet med en ikke-Type I Stamme, men en Del andre Stammer gjorde det mere eller mindre fuldstændigt. Disse Stammer samledes i Type II, som atter underdeltes i »Racer« a., b., c., d. Heraf bandt Race a væsentlig mere Agglutinin end de andre 3 Racer.«

»7 Stammer«, skriver Forf. »fjernede intet Agglutinin fra Serum af disse 2 Typer. De 3 af dem samledes som Type III og 2 som Type IV, 1 Stamme benævnedes Type V og 1 Type VI.«

Vi ser altsaa en Uddifferentiering af Gonokoktyper, der er noget »finere«, men samtidig noget mere kompliceret end den, vi i det foregaaende er naaet til.

Paa Forhaand kan man selvfølgelig ikke gaa ud fra, at Gonokoktyper i Amerika og Gonokoktyper i Danmark er de samme, thi at Raceejendommeligheder, Levevis eller helt andre Faktorer kan sætte deres Præg paa de pathogene Mikrober, der hjemsøger et Lands Befolkning, har vi jo det smukkeste Bevis paa fra vore hjemlige Undersøgelser over Meningokoktyperne. Desværre har jeg ikke fra Udlandet faaet Typestammer til sammenlignende Undersøgelser, men en saadan Forsendelse vilde antagelig (i hvert Fald af levende Kulturer) være forbundet med ret store Vanskeligheder paa Grund af Gonokokkernes sarte Vækst.

En Sammenligning mellem de hjemlige og fremmede Typer har derfor været umulig, men intet er til Hinder for, at vor *Type I*, den »reneste« af Typerne, svarer til *Hermanies Type I*, og vor *Type II* til de 4 Racer af den amerikanske *Type II*, thi som det vil erindres er denne Type heller ikke herhjemme »ren« (se *Table II*), men derimod »renset«, d. v. s. befriet for Virkningen af *Stammeantigenerne*, gennem den anvendte Teknik. At vi muligvis ogsaa kunde udpensle vore hjemlige *Typer II* og *III* i »Racer« tør ikke anses for usand-

synligt, og at et udvidet Materiale vil kunne give os mindre Typer som de amerikanske IV, V og VI, maa ligeledes betragtes som højest sandsynligt. Mærk saaledes Stammerne e og x.

I det udvidede Materiale, som er undersøgt og som siden skal omtales, fandtes Gonokokstammer fra enkelte Søfolk, der fra fremmede Havnestæder havde hjembragt deres Infektion. Da disse Stammer alle har tilhørt en eller anden af de hjemlig kendte Typer, styrker det unægtelig Formodningen om Gonokokkernes internationale Typepræg.

I Tilslutning til sine Resultater af Typeundersøgelserne fremsætter *Hermanies* en — uhyre kompliceret — Teori om Gonokokkernes Antigenbygning og indbyrdes Sammenhæng. (Teorien maa læses i Originalafhandlingen, da et Resumé deraf paa en nogenlunde begrænset Plads vil være uforstaaelig).

Hermanies skriver bl. a., at Partialantigenerne maa være underkastet Svingninger, »snart findes overvejende specifikt Antigen (*Typeantigen*) og snart overvejende X-Antigen (*Artsantigen*), thi efter et halvt Aars Forløb giver Stammen et Immunserum, der er forskelligt fra det oprindelig fremstillede!« (Efter vore egne Undersøgelser ved vi jo imidlertid, at samme Stamme paa samme Tid hos forskellige Dyr frembringer forskellige Immunsera). Forfatteren mener med andre Ord, at Typerne er underkastet stadige Svingninger. Han skriver: »*a single clear-cut type may by molecular rearrangement acquire new antigen constituents and split into several races.*« Og han fortsætter: »*This marked lability and variation in quantity and constitution of the various components constituting the antigen complexes of the races of Type II show, that a strain is potentially able to revert to the original type or differentiate into variants definite and*

characteristic enough to constitute fairly distinct races«. Som omtalt har jeg aldrig selv kunnet paavise slige Variationer i Typepræget, saa paa dette Punkt maa jeg betragte *Hermanies* Anskuelse med nogen Skepsis.

Forf. slutter sit Værk med følgende Udtalelse:

»*Not all the compotents present in an antigen stimulate the formation of agglutinins: in some strains one, and in others a different agglutininogen actuates its specific agglutinins. This complicates the grouping of strains, having such variable and complex antigen composition, necessitating a large number of serums for the establishment of their interrelationships within a single type*«, en Bemærkning der, som det vil erindres, er ganske overensstemmende med de Konklusioner, jeg har draget af egne Undersøgelser.

Hermanies' har i sit Arbejde kun interesseret sig for den rent biologiske Side af de foreliggende Spørgsmaal. Muligheden for en klinisk Betydning — for en Sammenhæng mellem Typepræg og Sygdomsbillede — bliver ikke berørt i Tilslutning til hans Undersøgelser. Men kort Tid efter Offentliggørelsen deraf fremkom om lignende Undersøgelser fra tysk Side (*Jøtten*) en Afhandling, hvis Tyngdepunkt netop synes at være lagt paa den kliniske Side af Sagen, paa den gonorrhøiske Infektions Afhængighed af Gonokoktypen.

Selve Typebestemmelserne er af *Jøtten* udført ved direkte Agglutination i monovalent fremstillede Sera, saa efter det foregaaende maa man vel betragte disse med nogen Skepsis. Forf. mener imidlertid at kunne inddele sine 27 Gonokokstammer i mindst 4 Grupper, som han benævner A, B, C og D.

Hovedinteressen ved *Jøtten's* Arbejde knytter sig til den udtalte Afhængighed, som Forfatteren mener at kunne paavise mellem Typepræg og klinisk Forløb. Vi skal derfor senere komme tilbage dertil.

FORTSATTE UNDERSØGELSER OVER GONOKOK- TYPERNE.

I. *Fordelingen af Stammerne indenfor Typerne.* (»Tvetyper«, »Tretyper«.)

Maalet med de udvidede Undersøgelser, som vi nu skulde gaa over til, var først og fremmest det, at bringe Klarhed i Spørgsmaalet om, hvorvidt der findes flere Gonokoktyper, og hvorledes det indbyrdes Forhold stiller sig mellem Antallet af Repræsentanter for hver af disse Typer.

Skal Undersøgelserne imidlertid føres ud over et stort Materiale, saa maa samtidig prøves Mulighederne for at simplificere Teknikken derved og for at bedre Vækstbetingelserne for Gonokokkerne, saaledes at Rendyrkningen fra Patienterne kan lykkes i et større Procenttal, end Tilfældet hidtil har været.

Til Slut skal saa, i Forbindelse med *Jøttens* Undersøgelser, omtales det Indtryk, som en flygtig Gennemgang af Journalmaterialet har givet mig med Hensyn til Spørgsmaalet om Afhængigheden mellem Gonokoktyperne og det kliniske Forløb.

En Tidlang fortsattes Undersøgelserne paa Basis af de indhøstede Erfaringer. Der udvalgte en Stamme som Repræsentant for hver af de tre Typer, og disse Stammer i Forbindelse med Sera fremstillet med andre Stammer indenfor

samme Type (saaledes som omtalt S. 111) blev lagt til Grund for Differentieringen.

Nedenstaaende Forsøg viser den tekniske Anordning — og de viser desuden, at Stammerne i det store og hele synes at holde sig indenfor de 3 omtalte Typer.

I Modsætning til de tidligere undersøgte Stammer finder man i nedenstaaende Forsøg over 30 Stammer (Mrk.: 1—30):

1) Det indbyrdes Forhold mellem Antallet af Repræsentanter for hver af de 3 Typer forrykket og

2) en ret almindelig Optræden af »Tvetyper« — endog af en »Tretype«.

	<i>Type I.</i>				<i>Type II.</i>				<i>Type III.</i>			
	(Serum F ¹ fort. $\frac{1}{40}$)				(Serum V ² fort. $\frac{1}{40}$)				(Serum K ² fort. $\frac{1}{10}$)			
	F ¹				V ²				K ²			
	—b	0.	0.	0	—n	0.	0.	0	—t	0.	0.	0
1.	0.	0.	0		0.	0.	0		80.	90.	100	
2.	0.	0.	0		0.	30.	60		0.	20.	70	
3.	80.	90.	100		30.	60.	70		0.	10.	60	
4.	0.	0.	0		0.	0.	0		20.	80.	90	
5.	0.	0.	0		50.	80.	90		0.	10.	60	
6.	0.	0.	0		0.	0.	0		90.	100.	—	
7.	0.	0.	0		0.	0.	0		80.	90.	100	
8.	0.	0.	0		0.	0.	10		0.	10.	50	
9.	0.	0.	0		60.	80.	90		0.	0.	80	
10.	0.	0.	0		60.	80.	90		0.	0.	80	
11.	0.	0.	0		0.	0.	0		20.	60.	80	
12.	0.	0.	0		0.	0.	0		60.	90.	100	
13.	0.	0.	0		60.	80.	90		0.	10.	60	
14.	0.	0.	0		60.	80.	90		80.	90.	100	
15.	0.	0.	0		0.	0.	0		90.	100.	—	
16.	0.	0.	0		60.	80.	90		10.	40.	80	
17.	0.	0.	0		0.	20.	60		10.	30.	70	
18.	80.	90.	100		0.	0.	0		0.	10.	60	
19.	0.	0.	0		60.	80.	90		0.	10.	60	

20.	0. 10. 50	80. 90.100	10. 40. 80
21.	0. 0. 0	0. 0. 0	0. 0. 60
22.	0. 0. 0	0. 20. 60	0. 0. 80
23.	80. 90.100	60. 80. 90	0. 0. 60
24.	0. 0. 0	60. 80. 90	0. 0. 80
25.	0. 0. 0	0. 0. 0	80.100. —
26.	0. 0. 0	0. 0. 0	80.100. —
27.	70. 80.100	0. 0. 0	90.100. —
28.	0. 0. 0	80.100.	0. 0. 0
29.	0. 0. 0	60. 80. 90	0. 0. 0
30.	0. 0. 0	0. 0. 0	20. 60. 80

Alle Kontrollforsøg: 100.

Samles Resultaterne som i de tidligere Tabeller, præsenterer de sig paa følgende Maade:

Stam- mer.	Type I.	Type II.	Type III.	Stam- mer.	Type I.	Type II.	Type III.
1	—	—	+	16	—	+	(+)
2	—	(+)	—	17	—	(+)	(+)
3	+	+	—	18	+	—	—
4	—	—	+	19	—	+	—
5	—	+	—	20	(+)	+	(+)
6	—	—	+	21	—	—	—
7	—	—	+	22	—	(+)	—
8	—	—	—	23	+	+	—
9	—	+	—	24	—	+	—
10	—	+	—	25	—	—	+
11	—	—	+	26	—	—	+
12	—	—	+	27	+	—	+
13	—	+	—	28	—	+	—
14	—	+	+	29	—	+	—
15	—	—	+	30	—	—	+

Altsaa: 1 Stamme er ren af Type I,
 10 Stammer » » » II,
 10 » » » III,
 2 » » tvetypede af I og II,

3	»	»	»	» II og III,
1	Stamme	»	tvetyptet	» I og III,
1	»	»	tretyptet	» I, II og III,

Endelig staar 2 Stammer udenfor de 3 Typer.

Disse 2 Stammer prøvedes i Sera E¹ og X¹, men syntes at staa uden nærmere Tilknytning til vedkommende Seras homologe Stammer.

Efter Resultaterne at dømme syntes Teknikken god til de paagældende Undersøgelser, men det kan ikke nægtes, at den er ret omstændelig. Selvom den lader sig gennemføre uden større Vanskelighed af den, der daglig arbejder i det serologiske Laboratorium og desuden er væsentlig tidsbesparende i Sammenligning med den tidligere anvendte Agglutinations-teknik, saa stiller den dog for store Krav til, at den vil kunne blive Hvermands Eje i Tilfælde af, at Typebestemmelse af Gonokokker engang med Tiden skulde vise sig at være af klinisk Værdi.

Inden vi derfor gaar i Gang med Typebestemmelser i større Stil, maa Mulighederne for yderligere at simplificere Teknikken gennemprøves.

II. »Rensning« af Immunsera.

Vi har set, at kun rent »specifikke« Immunsera (som F¹) tillader en direkte Typebestemmelse uden Absorption, og at saadanne Sera yderst sjældent lader sig fremstille gennem Immunisering.

Er det da muligt ad kunstig Vej at fremstille »typerene«, »specifikke« Sera?

Grunden til at de fleste af vore Immunsera viste sig at være »uspecifikke« var jo den, at de foruden det egentlige Typeantistof indeholdt Artsantistof og — maaske — Stammeantistof.

Spørgsmaalet bliver da: »Er det muligt gennem en »Forbehandling« af Serum — gennem Absorption af dette med Stammer af fremmede Typer — at fjerne Arts- og Stammeantistof saaledes, at Serum overhovedet kun reagerer med sine Typestammer og følgelig er anvendelig til en direkte Typebestemmelse?

Nedenstaaende Forsøg viser en saadan »Renselsesproces«.

(Serum B¹ fortyndet 1/50.)

	B ¹ (100)				Antigenkontrol.
f	0.	0.	0.	20.100	— 100
v	0.	0.	0.	80.100	—
t	0.	0.	10.	80.100	—

B_{vt}¹ (80)

f	0.	0.	0.	40.100	—
v	80.100.	—	—	—	—
t	80.100.	—	—	—	—

Det ses, at Serum B¹ fra et »uspecifikt« Serum er ændret til et »specifikt« — til et Serum, som giver Mulighed for en direkte Typebestemmelse uden Absorptioner.

Med de »uspecifike« Sera indenfor de andre Typer gaar det paa tilsvarende Maade.

Hosstaaende Forsøg bekræfter Muligheden for den direkte Typebestemmelse.

	Type I.	Type II.	Type III.	Antigenkontrol
	»B ¹ « (100)	»Y ¹ « (100)	»K ¹ « (100)	
f	0. 0. 0	40. 80.100	60. 80.100	100
v	20. 60. 80	0. 0. 0	20. 40. 80	—
t	40. 80.100	60. 80. 90	0. 0. 0	60
18	0. 0. 0	60. 70. 90	80.100. —	100
5	40. 60. 80	0. 0. 0	70. 80.100	—
«Solveig»	30. 30. 20	20. 20. 20	0. 0. 0	10

* • omkring Serummærket antyder at Serum er rensat.

Den rigtige Gruppering af Stammerne fremgaar af en Sammenligning mellem denne og tidligere viste Tavler. Kun den sidste Stamme »Solveig«, rendyrket fra Barn med Vulvovaginitis, har ikke tidligere været præsenteret. Gennem senere Absorptionsforsøg viste den sig imidlertid ogsaa at tilhøre *Type III*. (Bemærk desuden »Selvhæmningen«). Det fremgaar af Tavlen, hvor overordentlig skarpt Typerne træder ud fra hinanden i disse »rensede« Sera.

At fremstille disse »typerene« Sera voldte en Del Bryderier. For det første maatte man naturligvis til Absorptionen sikre sig Stammer, hvis Antigenbygning var nøje gennemprøvet, saaledes at man var sikret mod Fjernelse af de Antistofgrupper, hvis Tilstedeværelse i Serum var ønsket, og for det andet maatte Antigenerne udvaskes grundigt før Anvendelsen i Absorptionsojemed for at undgaa, at de »rensede« Sera virkede »selvhæmmende«.

Absorptionerne foretoges i 2 Seancer, d. v. s. først med den ene af de heterologe Typestammer og derefter med den anden. Det forekom mig, at denne Fremgangsmaade gav de bedste Resultater. Adskillige Sera af *Type III* viste sig ubrugelige til »Rensning«, thi deres Indhold af *særpræget Type III Antistof* var saa ringe, at Komplementbindingen efter »Rensning« af Serum med Typestammer som Antigen gav partiel Hæmolyse i første Udtitreringsglas.

III. Undersøgelse af Immunstofindholdet i det »omvendt specifikke« Serum.

Under Omtalen af Immunsera blev det i forbigaaende nævnt, at de »omvendt specifikke« Sera til Trods for monovalent Fremstilling var — polyvalente. De lod sig ikke »tømme« ved Absorption med en enkelt Stamme, men — hvad bliver tilbage?

Lad os ofre nogle Undersøgelser paa Spørgsmaalet om, hvorvidt det er muligt i et saadant »omvendt specifikt« Serum at uddifferentiere alle 3 Typer?

(Serum S^2 fortyndet $1/10$).

	S^2 (100)	Antigenkontrol.
f	0. 0. 0. 10. 60.100	100
v	0. 0. 0. 60.100 —	—
t	0. 0. 0. 20. 60.100	—

	S_{18}^2 (60)	S_5^2 (80)	S_7^2 (40)
f	80. 90. 100	0. 0. 0	0. 0. 20
v	0. 20. 50	20. 80. 90	10. 40. 100
t	10. 60. 100	40. 80. 100	60. 100. —

Stammernes Fordeling indenfor Typerne. Type I: f. 18.
 , II: v. 5.
 , III: t. 7.

Ovenstaaende Forsøg viser en tydelig Adskillelse mellem *Type I* — og de 2 andre Typer, men en skarp Adskillelse mellem *Type II* og *III* har det ikke været muligt at drage i et saadant Serum.

Forsøget med Serum O^3 afgiver et lignende Eksempel.

(Serum O^3 fortyndet $1/80$).

	O^3 (100)	Antigen.
f	0. 0. 0. 0. 30. 60	100
v	0. 0. 0. 10. 50. 80	—
t	0. 0. 0. 40. 80.100	—

	O_f^3 (100)	O_v^3 (100)	O_t^3 (100)
f	80.90.100	0. 0. 0	0. 0. 0
v	0. 0. 40	80.90.100	50.70. 80
t	0.10. 50	70.80. 90	80.90.100

Atter her skiller *Type I* sig ud fra *Typerne II* og *III*, men disse ikke fra hverandre. At der imidlertid i Serum findes

for hver af disse Typer *særpræget Antistof* fremgaar af, at naar det paagældende Serum absorberes i Fortynding $\frac{1}{20}$ i Stedet for — som for — i Fortyndingen $\frac{1}{80}$, da faar man:

(Serum O^3 fortyndet $\frac{1}{20}$).

	O_t^3 (100)	O_v^3 (100)
v	0. 0. 20	80.90.100
t	80.90.100	20.60.100

altsaa en noget bedre Adskillelse af *Type II* og *Type III*.

Begge disse to Sera synes, skønt fremstillet med Stammer henholdsvis af *Type III* og *Type II*, at være prægede overvejende som *Type I* Sera. Det paa Side 65 viste Serum, fremstillet med en *Type III* Stamme (j), synes derimod (undtagelsesvis) at have det for hver enkelt af de tre Typer *særprægede Antistof* nogenlunde ligeligt repræsenteret, omend *Type I-Antistoffet* ogsaa der er dominerende.

Næsten overalt ved disse Undersøgelser finder man et langt skarpere Skel mellem *Type I* paa den ene Side og *Type II* og *III* paa den anden Side end mellem de to sidstnævnte. Antagelig staar dette — foruden med Aviditetsforhold — i Forbindelse med en *større Overensstemmelse i Bygning af Typestammerne II og III end mellem disse og Type I*.

Man kunde forestille sig disse »polyvalente«, »omvendt specifikke« Sera bygget i Overensstemmelse med følgende Model (Fig. I):



Fig. I.

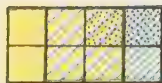


Fig. II.



Fig. III.



Fig. IV.

Tænker man sig nu det omtalte Serum O³ indeholdende de til omstaaende Fig. I svarende Antistoffer, vil der i et saadant Serum, efter Absorption med en Stamme af *Type I* (f), blive Antistoffer tilbage som vist paa Fig. II. Hermed reagerer baade *Typestammerne II og III*.

Efter Absorption med Repræsentant for *Type III* (t) resterer som vist paa Fig. III, og efter Absorption med *Type II* (v), som vist paa Fig. IV.

I Serumfortynding 1 : 80 synes Mængden af disse *særprægede Type II og III Antistoffer* (i omstaaende Forsøg) at være for ringe til, i Forening med det i Forsøget tilstedevarende Antigen af tilsvarende Typer, at kunne give en total Binding af Komplementet. Men saa snart man ved Koncentration af den samlede Antistofmængde (Serumfortynding 1 : 20) forøger den absolutte Mængde af Antistof, vil ogsaa, som Forsøget viste, den efter Absorption resterende Mængde af *særpræget Type II og III Antistof* være tilstrækkelig til at give en total Hæmning af Hæmolysen med Antigen v, partiel Hæmning med Antigen t.

I en Del monovalent fremstillede Sera er det altsaa muligt at uddifferentiere alle tre Typer, men — er Størsteparten af disse Sera end anvendelige til Afgørelse af Spørgsmaalet: Type I eller ikke, saa synes de dog gennemgaaende at være uegnede til en yderligere Uddifferentiering, grundet paa deres forholdsvis ringe Indhold af (for Typerne II og III) særpræget Antistof.

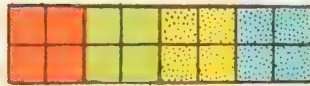
IV. Betragtninger vedrørende »Slægtskabet« mellem Gonokokstammer af forskellige Typer.

Med Hensyn til selve Typespørgsmaalet for Gonokokkernes Vedkommende giver disse Paavisninger af *særpræget Antistof* for alle 3 Typer i monovalent fremstillet Serum os Lejlighed til nogle Betragtninger.

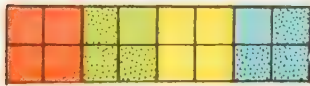
Vi har set, at vel optræder de fleste Gonokokstammer som Monotyper, men indenfor hver af de tre Typer findes Stammer, hvis Antigenbygning griber over paa én — en enkelt Stamme endog paa begge de andre Typer. Og vi har paa-vist tilsvarende Forhold blandt vore Immunsæra, d. v. s. alle Overgange fra det rent »specifikke« (monotypede) — til det polyvalente, »omvendt specifike« (tretypede) Serum. Vi har truffet Særa med Antistofindhold, hvortil Serums homologe Stammer — tilsyneladende — mangler Antigen, og vi har truffet andre Særa, der — tilsyneladende — mangler Antistof, hvortil Serums homologe Stammer indeholder paavise-ligt Antigen.

Mon ikke disse Forhold leder hen imod, at *hele Typedifferentieringen til syvende og sidst munder ud i et rent Aviditetsforhold*? Mon ikke den ene Stamme i Virkeligheden er bygget ganske som den anden og kun — Aviditeten — af Typeantigenerne inden for de enkelte Stammer er forskellig og derved giver de »Billeder«, vi opfatter som Typer?

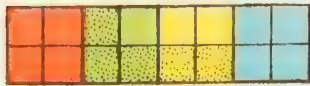
Modellerne forklarer hvorledes:



Type I.



Type II.



Type III.

At Aviditetsforskelligheder danner Grundlaget for Type-

differentiering forekommer mig sandsynligt, men hvorledes det nu end forholder sig med den indbyrdes Sammenhæng mellem Typestammerne, saa har vi set af det foregaaende, at man ved »Rensning« af Sera kan undgaa de omstændelige og tidsrøvende Absorptionsforsøg. Det skal indrømmes, at en meget betydelig Simplificering af Teknikken er opnaaet derved, men Hovedvanskeligheden — den væsentligste Hindring for en eventuel almen gennemført Typebestemmelse af Gonokokker i den praktiske Lægevidenskabs Tjeneste ligger slet ikke i den serologiske Undersøgelse, men i Tilvebringelsen af Renkultur af Gonokokker. Jeg skal senere omtale de Kræfter, der i de sidste Aar er sat i Gang for at overvinde Dyrkningsvanskelighederne, men — *er det muligt helt at undgaa Rendyrkningen?*

V. Forsøg paa Typebestemmelse uden Rendyrkning.

Efter at Wassermann & Bruck i 1906 havde vist, at man i Meningokokserum fik Komplementbinding med et Antigen, frembragt ved Centrifugering af den uklare Spinalvædske fra en Meningitispatient, saa kunde den Mulighed ikke udelukkes, at det gonorrhøiske Pus var direkte anvendeligt som Antigen i Forbindelse med »rensede« Typesera.

Jeg gjorde en Del Undersøgelser derover, dels ved at suspendere det gonokokholdige Pus i fysiologisk Saltvand til en Tæthed af Standard 7, 8, 9 og 10, dels ved Anvendelse af autolyseret Pus og dels ved Forudbehandling — »Sensibilisering« — af Pusset efter Altmann & Schultz' Antiforminmethode. Desværre gav samtlige disse Forsøg negative Resultater, en Del grundet paa Antigenernes »antikomplementære« Virkning, andre antagelig som Følge af Tilstedeværelsen af for faa Gonokokker i Pusset, og for Restens Vedkommende var Reaktionen saa svag, at den maatte anses for værdiløs.

I nogle ganske enkelte Tilfælde lykkedes det at faa positiv Reaktion i *Type I Serum* og negativ Reaktion i de andre Typesera, men da Typebestemmelsen i disse Tilfælde ikke lod sig verificere gennem Rendyrkning, tør man selvfølgelig ikke tillægge Resultaterne nogen større Værdi.

Indtil videre maa vi derfor betragte Renkultur af Gonokokker som en nødvendig Betingelse, en *conditio sine qua non*, naar det drejer sig om Typebestemmelser, — og i det følgende skal undersøges Betingelserne for den bedst mulige Tilvejebringelse af en saadan Renkultur.

Endnu var der jo den Mulighed, at de Antistoffer, der paa-vises i Patientsera, kunde være typeprægede i langt højere Grad, end Tilfældet var med vore Kaninsera, altsaa »*specificke*« Sera, og at man ved Hjælp af en Gang typebestemte Stammer, gennem Antistoffet i vedkommende Patientsera kunde bestemme den inficerende Gonokoks Type. Vi skal i det følgende se, at dette ikke lader sig gøre, men — selvom det havde været muligt, vilde en Typebestemmelse ad denne Vej i hvert Fald aldrig faa nogen praktisk Betydning, thi som tidligere Undersøgelser har vist, optræder Antistofferne, i de Tilfælde hvor de overhovedet lader sig paavise, først efter saa lang Tids Infektion, at Kendskab til Typen af Hensyn til dens eventuelle prognostiske Betydning, da vil være uden større Interesse og en specifik Behandling institueret paa det Tidspunkt uden større Værdi.

Naar vi nu midlertidig vil forlade Typebestemmelserne for at undersøge Vækstbetingelserne for Gonokokkerne og for i korte Træk at omtale de Anstrengelser, det har kostet, at gøre dem saa gode, som de i Øjeblikket er, saa er det dels for, som ovenfor nævnt, at søge at skaffe de bedst mulige

Betingelser til Veje baade for Fremskaffelsen af Primærkulturer og for Vedligeholdelsen af Materialet til Undersøgelserne, og dels for at se, om de paaviste 3 Typer ogsaa i andre biologiske Foreteelser skiller sig ud fra hverandre.

DYRKNING AF GONOKOKKER.

I. *Gonokokstammernes forskellige Resistens og Vækstkrav — og disse Egenskabers Afhængighed af Typepræget.*

Det vil erindres fra Indledningen, hvor store Vanskeligheder der lige siden Gonokokundersøgelsernes tidligste Dage har været forbundet med Dyrkningen af det paagældende Virus, — og hvilken Uenighed disse Dyrkningsforsøg afstedkom.

Neisser fremsatte jo i sin Tid den kategoriske Paastand, at alt, hvad der voksede paa almindelig Agar, ikke kunde være Gonokokker. Men omkring Aarhundredskiftet omstødtes dette Dogme af *Thalmann*, der hævdede, at kun Substratets Reaktion var af Betydning for Gonokokkernes Vækst.

Snart efter meddelte *Wildbolz*, at de fleste, men dog ikke alle Gonokokker, kunde vokse paa almindelig Agar, og faa Aar efter meddelte *Torrey*, at det kun var en mindre Part af Gonokokkerne, der kunde vokse derpaa.

Warden prøvede i 1913 en Række forskellige Substrater til Gonokokdyrkning med det Formaal for Øje at undgaa Til sætning af Menneskeæggehvide. Han anbefalede almindelig Bouillon tilsat NaCl , CaCl_2 , KCl_3 , Na_2CO_3 , men indrømmede, at selvom de fleste Gonokokker voksede godt deri, var det ikke dem alle, der vilde udvikle sig i det Substrat.

I 1915 beskrev *Broughton-Alcock* »en utvivlsom Gonokokstamme«, der *primært* gav særdeles god Vækst paa alminde-

lig Agar, og som efter nogen Tids Dyrkning endog voksede uden Pepton. Andre Gonokokstammer lykkedes det ham overhovedet ikke at faa i Vækst paa almindelig Agar.

For mig selv er Dyrkning af Gonokokker paa almindelig Agar aldrig lykkedes i primær Kultur, og i senere Kulturer har jeg kun opnaaet Vækst i een eller to Generationer. At den genuine Menneskeæggehvide i væsentlig Grad begunstiger Gonokokkernes Udvikling paa det kunstige Substrat, er saaledes hævet over enhver Tvivl.

Men efter disse og senere indvundne Erfaringer maa det da antagelig erklæres for umuligt at opstille absolutte Betingelser med Hensyn til Gonokokkernes Dyrkning, thi de synes at være højst forskellige. Nogle, sikkert de fleste Gonokokker, forekommer at være saare »kræsne«, medens andre trives ypperligt paa de almindelige Substrater, og den primære Kultur stiller saa godt som altid langt større Krav til Næringssubstrat end en gennem længere Tid dyrket Stamme.

I et nylig udkommet Arbejde af *Cole & Lloyd* skriver Forfatterne, at de forskellige Forskeres Uenighed med Hensyn til Gonokokkernes Vækstkrav antagelig maa sættes i Forbindelse med biologiske Variationer af Gonokokstammerne. Vi skal se, hvorvidt deres Formodning er berettiget.

Jenkins paapegede den forskellige Hastighed, hvormed Gonokokkerne udvikles til Kolonier paa det kunstige Substrat, og *Morax* skriver, at »ved Sammenligning af Gonokokstammer fra forskellige Kilder vil det let konstateres, at nogle af dem kun er i Besiddelse af ringe Vitalitet, medens andre holder sig levende i lang Tid uden Omsaaning.«

Begge disse Iagttagelser er blevet bekræftet gennem mine egne Undersøgelser, og det kan ikke nægtes, de støtter vor Tillid til *Cole & Lloyd's* omtalte Hypothese.

Spørgsmaalet var nu: *Er der nogen Forbindelse mellem*

Stammernes Typepræg og deres Vitalitet, og stiller muligvis Gonokokker af een Type større Krav til Udvikling af Kolonier paa kunstigt Substrat end Gonokokker af en anden Type?

At Gonokokker af forskellige Typer viser sig forskelligt resistente synes at fremgaa af nedenstaaende.

Resistensforsøg:

3 Gonokokstammer fra en 16 Timers Kultur paa Ascites-ager, een Stamme af *Type I* (f), een af *Type II* (v) og een af *Type III* (t) suspenderes i hver sit Glas sterilt fysiologisk Saltvand til Tæthed »Standard 8«.

Umiddelbart efter Suspensionen udsaaes med en steril Plattinaal en Øse fra hvert af de 3 Glas paa Ascitesagar. Fra disse Udsaaninger udvikles i Løbet af det paafølgende Døgn en rigelig Vækst af Gonokokker.

Efter en Times Henstand af Saltvandssuspensionerne ved Stuetemperatur udsaaes atter en Øse fra hvert Glas paa Ascitesagar, og Udvikling af Gonokokker forløber som følger:

Fra Suspensionen af *Type I*: ret talrige Kolonier.

»	»	»	II: spredte	—
»	»	»	III: enkelte	—

Efter $2\frac{1}{2}$ Times Henstand ved Stuetemperatur udsaaes paany en Øse fra hvert af de 3 Glas, og Resultatet bliver da følgende:

Fra Suspensionen af *Type I*: spredtliggende Kolonier.

»	»	»	II: enkelte	—
»	»	»	III: ingen	—

Efter yderligere en Times Henstand er Væksten følgende:

Fra Suspensionen af *Type I*: 3 Kolonier.

»	»	»	II:	} ingen Vækst.
»	»	»	III:	

Med Stammerne 18, 5 og 7 henholdsvis af *Type I, II* og *III* gentages Forsøget — med tilsvarende Resultat.

Det ser altsaa ud til, at *Type I* er den mest resistente, og at Resistensen er aftagende mod *Type III*.

Efter 24 Timers Henstand af ovennævnte Saltvands-suspensioner viste det sig, at *Type III* Glasset var ganske klart, maaske svagt opaliserende, medens *Type I* Glasset havde bevaret sin Tæthed (Standard 8) uforandret og *Type II* kun var lidt klarere. Ogsaa dette synes at vise, at Bakterierne af *Type III* undergaar en hurtigere Autolyse end de af andre Typer.

Allerede i 1909 omtaler *Mc. Clintock & Clark*, at en Saltvandssuspension af Gonokokker bliver klarere ved Henstand i 12—24 Timer ved Stuetemperatur. Nogen Forskel paa Hastigheden hvormed denne Opklaring indtræder for de enkelte Stammer, har de dog ikke iagttaget.

Endelig bør i denne Forbindelse nævnes, hvad jeg talrige Gange har set, at naar Gonokokker af en eller anden Grund ikke har været omsaaet i flere Døgn, da har det altid været vanskeligt at faa *Type III* Stammerne i Vækst igen, medens *Type I* Stammerne ikke har frembudt Vanskeligheder i den Henseende.

Der er altsaa næppe nogen Tvivl om, at *Type I* Stammer er de mest resistente og livskraftige, medens Gonokokker af *Type III* er vanskeligst at holde i Live paa kunstigt Substrat.

Hvorledes forholder det sig nu med Levedygtigheden af de *primære* Kulturer paa det kunstige Substrat?

I Omtalen af Substraternes Værdi til Gonokokdyrkning er de fleste Forfattere desværre tilbøjelige til kun at nævne den hurtige og rigelige Udvikling af Kolonier fra ældre Kulturer, medens de i Tavshed forbigaar Tal, der kunde give et Skon

over, i hvor stort et Antal af de frisk anlagte, primære Kulture, Vækstforsøget krones med Held.

Dog giver enkelte som *Picker* nærmere Oplysning, idet han i 1906 skriver, at han fra omtrent 80 % af sine gonokokinficerede Patienter fik Vækst af Gonokokker paa *Thalmanns* Agar. (Et næsten forbløffende godt Resultat). Samme Vækstprocent naaede *Fey* i nyligt offentliggjorte Undersøgelser. Han oplyser, at trods utvivlsomme Gonokokkers Tilstedeværelse i alle de udsaaede Sekreter, fik han i ca. 20 % af disse ingen Vækst af Gonokokker.

Cook & Stafford fik kun Vækst af Gonokokker fra ca. 50 % af Sekreter, til Trods for, at de alle hidrørte fra ubehandlede Patienter.

Hvad er nu Grunden til, at en saa forholdsvis stor Procent af Gonokokker ikke lader sig fremskaffe i Renkultur?

Vi skal straks undersøge dette nærmere, men foreløbig se paa Resultaterne af egne Dyrkningsforsøg.

II. Egne Dyrkningsforsøg.

(Leucocyternes baktericide Virkning. — Brintjonnkoncentrationens Betydning.)

De hidtil omtalte Gonokokker har alle været dyrket paa *Ascitesagar*. Det først anvendte Substrat var det samme, som *Ferd. Wulff* anvendte til Dyrkning af Meningokokker og som findes omhyggeligt beskrevet i »*Undersøgelser over Meningokoktyper*«.

Medens dette Substrat var særdeles gunstigt til Dyrkning af Meningokokker, var det kun forholdsvis faa Gonokokker, der kunde udvikles derpaa. Til Trods for, at der kun blev udsaaet Sekreter fra friske ubehandlede mandlige Patienter. Sekreter som altid ved mikroskopisk Undersøgelse viste talrige Gonokokker, saa havde jeg forsøgt Dyrkning fra ca. 60 Patienter, inden det var lykkedes mig at samle de første 25

Stammer. Mere end 50 % af de tilsaaede Petriskaale gav alt-saa ingen Vækst af Gonokokker, nogle blandt disse derimod af forskellige Gram-positive Kokker, — men Flertallet af Skaalene forblev sterile.

Mine Resultater var altsaa snarest ringere end andres, — hvad var Aarsagen dertil?

Vel vidende, at Gonokokkerne var saare ømtaalelige for *Temperatursvingninger*, blev Substraterne altid opvarmet i Termostaten før Brugen, og umiddelbart efter Tilsaaningen blev »Podeglassene« bragt tilbage til Termostaten, saa Muligheden for, at Gonokokkerne skulde være døde som Følge af Afkøling, kan paa Forhaand udelukkes.

At *antiseptiske Midler* ikke havde svækket eller dræbt Gonokokkerne kan ligeledes udelukkes, thi samtlige Sekreter blev som nævnt taget fra friske ubehandlede Patienter.

Der var dernæst en Mulighed for, at *Leucocyternes baktericide Indflydelse* kunde gøre sig gældende. Leder man en Række Udstrygningspræparater igennem, vil man hurtigt erfare, at i en Del gonokokholdige Sekreter er Fagocytosen af Gonokokkerne saa godt som total, d. v. s. man ser ikke en eneste extracellulært liggende Bakterie, medens andre Præparater kun viser en ringe Grad af Fagocytose.

Thalman skrev i sin Tid, at kun extracellulære Gonokokker kunde formere sig. Hvis det var rigtigt, vilde det jo samtidig være let forstaaeligt, hvorfor man snart fik god Vækst af Gonokokkerne og snart ingen, men gentagne Gange har *Thalman*s Postulat været imødegaaet, og personlig nærer jeg ingen Tvivl om, at det er forkert. *Hofmeister* mente endog, at Leucocyterne som Organismens Peptonbærere var særdeles gunstige for Udvikling af Gonokokker og, følger man under Mikroskopet det gonokokholdige Pus' Skæbne paa Næringssubstratet, saa ser man i en Del Tilfælde, hvorledes de fagocyterede Gonokokker efter 3—4 Timers Ophold i Termo-

staten begynder at dele sig, hvorledes der stadig dannes flere og flere Bakterier, som efter 6—8 Timers Forløb sprænger Cellen og fortsætter Delingen extracellulært, medens Cellens Konturer lidt efter lidt udviskes og forsvinder. Lignende Iagttagelser er allerede i 1897 beskrevet af *Christmas*. Det er altså givet, at de fagocyterede Gonokokker i en Del Tilfælde er udviklingsdygtige. I andre Tilfælde ser man derimod Leucocyten bevare sin Kontur og Kerne uforandret, medens de fagocyterede Bakterier langsomt forsvinder.

Baermann forklarer disse Forhold ved, at Puscellerne er i Besiddelse af forskellig Resistens; og muligvis har han Ret, naar han hævder, at der »ved Henfald af Puscellerne frigøres for Gonokokkernes Udvikling særdeles gunstige Stoffer, medens derimod den endnu levende Celle gennem et ukendt Stofskifteprodukt hæmmer — eller i mange Tilfælde — ødelægger de i den beroende Gonokokker.«

Jeg forsøgte i en Del Tilfælde at udsaa det gonokokholdige Pus baade i tykt Lag (for muligvis at opnaa en gunstig Virkning ved Henfaldet af Puscellerne) og ganske tyndt (for at sprede Leucocyterne saa meget som muligt og derved ned sætte deres eventuelt skadelige Indflydelse paa Gonokokkernes Delingsproces). Fra tykt Puslag kom imidlertid aldrig Vækst, kun den tynde Udstrygning lod sig anvende; men som nævnt gav den kun Vækst af Gonokokker i et ret sparsomt Procenttal af Tilfældene.

Maatte Aarsagen dertil tilskrives Puscellernes baktericide Virkning, eller maatte man regne med den Mulighed, at det benyttede Substrat — *Ascitesagaren* — var uhensigtsmæssig for Udvikling af visse, maaske særlig »kræsn« Gonokokker, at med andre Ord Substratet ikke i alle Tilfælde bød lige gode Betingelser for Udvikling af Kulturerne?

Hvad angaar den første af disse Muligheder, saa kunde det jo ikke udelukkes, at *Leucocyternes baktericide Evne*

varierede i de forskellige Sekreter, og at de var levedygtige i kortere eller længere Tid udenfor Organismen. (Efter det mikroskopiske Billede at dømme syntes det jo virkelig, som om Puscellerne fra nogle Sekreter var mere livskraftige end fra andre, thi de bevarede Konturer og Kerner i forskellig Tid.) Denne Mulighed kombineret med den af *Baermann* fremsatte Hypothese kunde da forklare, hvorfor man i det ene Tilfælde fik Vækst af Gonokokker, i det andet Tilfælde ingen Vækst.

Jeg forsøgte ved Injektion af Pusceller (taget fra steril Absces hos Menneske) paa en Kanin at fremstille et »Leucocidin«, men dette havde desværre ikke den ønskede Virkning, det syntes endda snarest at paavirke Bakterierne.

Saa var der den anden Mulighed, at *Gonokokkerne var mere og mindre resistente og »kræsne«*. For de ældre Kulturers Vedkommende har vi alt konstateret en Resistensforskkel, og højst sandsynligt gør den sig da ogsaa — maaske i endnu mere udpræget Grad — gældende i de primære Kulturanlæg.

Hvad angaar Spørgsmaalet om, hvorvidt det anvendte Substrat var gunstigt for den ene Gonokok og ugunstigt for den anden, saa gik den eneste Vej til at bringe Klarhed over dette Spørgsmaal selvfølgelig gennem en nøje Analysering af vort Substrat, og i Erkendelse af den Betydning, som man efter de sidste Aars talrige Undersøgelser maa tilskrive *Brintionkoncentrationen* over for de biologiske Processer, gik jeg først i Gang med at undersøge denne Faktors Indflydelse. Hertil benyttedes den »kolorimetriske« Methode, saaledes som den oprindelig er angivet af *S. P. L. Sørensen*, og nærmere udviklet af *Clark & Lubs* til Anvendelse overfor de bakteriologiske Næringssubstrater.

Det viste sig, at det anvendte Substrat havde en p_H Værdi af ca. 7.8—8.0, altsaa lidt større (mere alkalisk) end andre Undersøgere havde fundet som den optimale for Gonokok-

kerne. Jeg bragte derfor, ved Tildrypning af nogle Draaber 10 n -HCl til den smeltede Agar, (før Tilsætningen af Ascites for at undgaa Syreudfældning af denne), p_H ned til ca. 7.4—7.6, og gennem en ny Række Tilsaaninger med gonokokholdige Sekreter steg Vækstprocenten til op imod 80. Udviklingen af Kolonierne fremskyndedes desuden ved, at Agarlaget paa Petriskaalene blev gjort betydeligt tykkere, end Tilfældet hidtil havde været.

Man var altsaa ved en forholdsvis ringe Ændring af p_H Værdien naaet til væsentlig bedre Dyrkningsresultater. Men var der Mulighed for ogsaa at opnaa Vækst af de sidste 20 %?

Efter hvad vi har set, er der jo ingen Tvivl om, at Substratets Brintionkoncentration spiller en betydelig Rolle for Gonokokkernes primære Udvikling paa det kunstige Substrat. p_H Værdierne 7.4—7.6 er gunstigere end p_H Værdierne 7.8—8.0 for Udviklingen af de fleste Gonokokker, — men maa-ske ikke for dem alle. Det var jo muligt, at en Del af de Kulturer, der udvikledes ved de høje p_H Værdier, ikke kunde udvikles ved den lavere, ligesom vi har set, at nogle Kulturer udvikles ved lavere p_H , men ikke ved den højere. Og der var jo endelig den Mulighed, at nogle Stammer krævede endnu lavere resp. endnu højere p_H Værdier end de, vi her har prøvet, Cole & Lloyd giver i 1921 Udtryk for lignende Formodninger, idet de skriver, at det synes som »Optimum af p_H varierer med Stammerne, og er karakteristisk for hver enkelt.«

Med de ældre Stammer prøvede jeg først p_H Grænserne for Vækst af Gonokokker. De svingede lidt for de enkelte Stammer, var saaledes videre for Type I end for Type II og III Stammerne, men laa for dem alle mellem ca. 6.8—8.0. (Til Sammenligning fandt Herrold i 1921 p_H Grænserne mellem 7.0—7.8, altsaa lidt snævrere).

Med disse Grænser som Yderpunkter fremstilledes saa en Række Substrater af forskellig »Surhedsgrad«.

Da den nøjagtige p_H Bestemmelse i faste Substrater er ret omstændelig, indskrænkede jeg mig til at bestemme de omtalte Ydergrænser ved Hjælp af Indikatorer, og imellem disse fremstilledes saa Substrater med 3 forskellige p_H Værdier, saa jeg inden for Gonokokkernes Vækstomraade havde Substrater med 5 forskellige p_H Værdier.

Petriskaalene med de færdige, tilberedte Substrater betegnedes med Numrene 1—5.

Fra en Række (16) Patienter tilsaaedes alle 5 Skaale, og Resultaterne af Dyrkningsforsøgene tog sig ud paa følgende Maade:

	p_H .	2 Ptt.	3 Ptt.	7 Ptt.	3 Ptt.	1 Ptt.
Skaal No. 1	7,8	(+)	+	—	—	—
» - 2	7,6	+	+	(+)	—	—
» - 3	7,4	+	+	+	(+)	—
» - 4	7,2	—	(+)	(+)	—	—
» - 5	6,9	—	—	—	—	—

— = tydelige Kolonier efter 24 Timer.

(+) = tydelige Kolonier efter 48 Timer.

— = ingen Vækst efter 72 Timer.

Det ses heraf,

1) at en Del Stammer fremdeles ikke lader sig dyrke,

2) at de dyrkbare Stammer stiller sig snart følsomme og snart mere indifferente overfor p_H -Værdien, og

3) at alle Stammerne synes at have Optimum ved Skaal No. 3 altsaa omkring p_H 7.4. Naar derfor *Cole & Lloyd* skriver, at Optimum af p_H varierer for de enkelte Stammer, forekommer det mig, at denne Udtalelse maa korrigeres til, at alle *Gonokokstammer* har samme p_H Optimum (cfr. *Thalman's* Udtalelse S. 16), men at nogle Stammer har et bredere Vækstbælte end andre.

Til de indledende Undersøgelser dyrkedes Gonokokkerne paa et Substrat, der svarede til »Skaal Nr. 1«. Af omstaaende vil det ses, at kun 5 af de 16 Sekreter giver Vækst paa dette Substrat, de 2 af disse endda kun sparsomt. Paa »Skaal Nr. 3«, det senere benyttede Substrat, opnaar man derimod væsentlig bedre Resultater.

Stammer af Type I viste i alle Tilfælde Vækst over et bredt p_{H} Bælte, medens Type III's Vækstbælte gennemgaaende var snævert.

Betragter man det indbyrdes Forhold mellem Typestammerne i den først indsamlede Række (de første 25 Stammer) og den anden Række (de 30 næste Stammer) (Tavle II S. 100 b og Tavlen S. 124), saa omtaltes det allerede tidligere, at Repræsentanterne for de 3 Typer syntes noget ulige fordelt i de 2 Serier, og navnlig fandtes i den sidste paafaldende mange *Type III* Stammer.

Tager man nu Dyrkningsresultaterne i Betragtning, saa synes disse til dels at forklare de paagældende Divergenser, thi — i første Serie dyrkedes fra ca. 60 Patienter, hvoraf kun de 25 »mindst kræsn« Stammer, altsaa fortrinsvis *Type I*, kom i Vækst; i anden Serie derimod, hvor Vækstprocenten var bedret betydeligt, nærmede Forholdstallet sig antagelig mere til det virkelige Forhold, selvom *Type III* Tallet rimeligvis endnu er for lille, paa Grund af de Stammer, som det ikke lykkedes at faa i Vækst.

Det vil erindres, at *Type III* Stammerne var mindst resistente og altid voldte storst Vanskelighed at holde i Live. Dyrker man disse Stammer paa et sukkerholdigt Substrat, som vor anvendte Ascitesager, der er indstillet paa $p_{\text{H}} = 7.6$, saa er det ikke usandsynligt, at denne gennem Bakteriernes Stofskifte- og Forgæringsproces, i Løbet af kort Tid synker

saa lavt, at Substratets Reaktion overskrider Grænsen for *Type III's* Udviklingskrav, og at dette fremskynder Kulturer-
nes Tilgrundegaaen.

Desværre er der jo stadig en Del — endda ikke saa helt faa — Stammer, som det ikke lykkes at dyrke paa vor Ascitesagar. Substratet maatte efter Flertallet af Stammerne at dømme være særdeles gunstigt. Gonokokker var der utvivlsomt i Sekreterne, levende maatte de skønnes at være efter deres stærke Farvemodtagelighed, Overvækst af andre Mikrober var der ikke Tale om, eftersom de fleste tilsaaede Petriskaale forblev ganske sterile. Afkøling og anden skadelig Indflydelse paa Udviklingen af Gonokokkerne var udelukket, — tilbage blev kun Muligheden for Puscellernes baktericide Egenskab eller for helt andre Vækstkrav, end de øvrige Gonokokker stillede. I Stedet for den direkte Udgnidning af Pusset paa Ascitesagaroverfladen forsøgte jeg at opslemme Pusset i Ascitesbouillon, henstille det et Par Timer ved 37°, derefter at centrifugere Vædsken — og endelig at udsaa Bundfaldet paa Ascitesagar. Naar jeg lod Pusset gennemgaa denne Procedure var det med det Formaal for Øje, muligvis at faa fjernet eventuelle baktericide Stoffer fra Sekreterne og desuden muligvis at svække Puscellerne uden Skade for Gonokokkerne. Denne Fremgangsmaade synes til dels at være kronet med Held. Uden i Øjeblikket at turde opgive noget absolut Tal tror jeg at kunne regne med > 90 % positive Dyrkningsresultater efter Indførelse af den, og rent praktisk har den ogsaa haft sin Værdi, idet jeg i en Række Tilfælde pr. Post har faaet tilsendt gonokokholdige Sekreter opslemmet i nogle Draaber Ascitesbouillon, og trods længere Tids Afkøling (5—6 Timer) har alle disse Sekreter efter Centrifugering givet Renkultur af Gonokokker. Det synes her-
efter ogsaa, som om den gængse Forestilling om Gonokok-
kernes Temperaturfølsomhed er noget overdreven.

III. Nogle nyere Substrater til Gonokokdyrkning — og Forsøg paa Forbedring af de ydre Vilkaar, hvorunder Gonokokkerne udvikles *in vitro*. (»Iltspænding«, Fugtighed, Temperatur.)

Naar man vil tale om et Substrats Værdi til Gonokokdyrkning, maa man skelne mellem 2 Ting:

- 1) Om Substratet skal anvendes til primær Dyrkning, eller
- 2) til Vedligeholdelse af Stamkulturer.

I første Tilfælde gælder det nemlig om efter bedste Evne at »kræse op« for Bakterierne, at tilbyde dem alle de tænkelige Stoffer og ydre Vilkaar, der kan stimulere og fremskynde Delingsprocessen. I sidste Tilfælde er Fordringerne derimod mindre, dels fordi den til kunstigt Substrat vænnede Mikrob stiller ringere Krav til fortsat Dyrkning, og dels fordi vi netop ønsker en langsommere Udvikling, langsommere Deling, og derigennem en længere Levedygtighed uden Omsaaning af Stamkulturerne.

Et Utal af tildels meget komplicerede Substrater har været foreslaaet til begge Formaal i Flæng, og nye anbefales stadig. Nogle enkelte blandt de nyere, som jeg til dels selv har gennemprøvet, skal omtales i det følgende.

I 1914 anbefalede *Hirschfelder* at tilberede Næringsbouillon af *Testikelvævsextrakt* i Stedet for af Kalvekød. *Hall* tilsatte denne Bouillon Agar og 0,5 % Glukose og mente derefter at turde anbefale Substratets Anvendelse til Dyrkning af Gonokokker. *Clark* tilsatte det yderligere »opvarmet Blod«, det Englænderne kalder »*Chocolate-blood*«, og angav herefter Substratet som værende fortrinligt.

Selv har jeg prøvet det i en Række Tilfælde til primær Kultur, men kan desværre ikke tilkende det et saa rosende Prædikat. Rent bortset fra at Substratet er ubehageligt ugenemsigtigt, skiddenbrunt, »chocoladefarvet«, er Vækstprocenten absolut ringere end paa den anvendte Ascitesager, og

Levedygtigheden af de ældre Kulturer ikke bedre end paa mit almindelig benyttede Substrat (*Ascitesager*).

Navnlig fra fransk Side (*Weil & Noir, Sabouraud & Noiré*) har *Valleagarsubstrater* været varmt anbefalet, men fra de fleste andre Lande er disse Substrater sat i en saadan Mis-kredit, at jeg ikke har følt mig foranlediget til at gennemprøve dem.

I 1915 foreslog *Vedder* Dyrkning af *Gonokokker* paa *Stivelseagar*, et simpelt og billigt Substrat, som jeg af den Grund fandt Anledning til at prøve. Substratet forekom mig at være temmelig »tørt«. Det var hvidt, ugenomsigtigt og ugunstigt til primært Anlæg af *Gonokokkulturer*, men *Stamkulturerne* holdt sig levende derpaa i 3—4 Uger uden Omsaaning. Derfor syntes det særdeles anvendeligt til Opbevaring af saadanne.

Schwartz & Mc. Neil anbefalede saltfri *Agar*, og *Henderson & Webster* Tilsætning af sekundært Fosfat i Stedet for Kogsalt, for gennem Fosfatets »Stødpudevirkning« at stabilisere Reaktionen. Jeg har gennemprøvet disse Forslag, men intet af dem syntes mig særlig værdifuldt.

Endnu en Del Substrater som f. Eks. *Besredka's Æggeagar* er blevet gennemprøvet, men ingen iblandt dem har, til primær Dyrkning, givet bedre Resultater end *Ascitesagaren*, særlig efter Indførelse af den omtalte Teknik (med *Ascitesbouillon*), og kan man saa let skaffe sig rigelig *Ascites*, som Tilfældet altid vil være i en Storby, da tvivler jeg paa, at noget af de foreslaaede Substrater kan konkurrere dette Substrat ud.

I de sidste Aar har talrige Røster hævet sig for, gennem Tilsætning til Substratet af forskellige Farvestoffer af Trifenylnmethangruppen at hindre Væksten af andre Kim, navnlig af de Gram-positive Kokker, ved hvis hastige Vækst man mente, at *Gonokokkerne* i mange Tilfælde kvaltes i Udviklin-

gen. *Churchman, Browning & Gilmour, Drennan & Teague, Dreyer, Krigler & Walker, Krumweide & Pratt, Gay & Morrison* meddeler saadanne Undersøgelser, og alle finder de nogen — omend langt fra ideel Virkning deraf, idet Farvestofferne, foruden at beskadige de fremmede Bakterier, ogsaa i nogen Grad paavirker Gonokokkerne.

Under den stadige Søgen efter de gunstigste Betingelser for Gonokokkernes Vækst fremkom, navnlig fra amerikansk Side, en Række Meddelelser om rent ydre Betingelser, hvis Indførelse skulde være af kapital Betydning for Dyrkningen, saaledes — en *reduceret Iltspænding*. *Chapin* anbefalede at erstatte 10 % af Luften med Kulsyre, *Ruediger* at udelukke Tilførsel af Ilt ved Dyrkning i tillukkede Reagensglas, *Wherry & Oliver* før Tillukningen at opvarme Glassene for at ud-drive Ilten. Der blev derved 70—100 mm.'s Undertryk i Glassene, hvilket var særligt gunstigt. *Herrold* anbefalede med samme Formaal at dyrke Gonokokker i Forbindelse med *bac. subtilis* i tillukkede Skaale, (*Hobacillerne* forbrugte Ilten), og *Swartz, Shohl & Davis, Buschke & Langer*, og adskillige andre anbefalede ligeledes den »reducerede Iltspænding«. Foranlediget af alle disse Anbefalinger prøvede ogsaa jeg Dyrkning i denne »partial tension«, parallelt med Dyrkning i almindelig atmosfærisk Luft, men jeg maa tilstaa, i intet Tilfælde opnaaede jeg at faa Vækst i »reduceret Iltspænding«, hvor den udeblev ved Dyrkning i atmosfærisk Luft. I en Del Tilfælde foregik Udviklingen af Kolonierne dog noget hurtigere under de paagældende Forhold, saa en vis gunstig Virkning maa man antagelig dog tilskrive den »reducerede Iltspænding«, selvom *Cook & Stafford* i et nyligt fremkommet Arbejde synes at frakende den enhver Betydning.

Et andet fysisk Krav, som fra enkelte Sider har været

fremdraget som værende af Betydning for Dyrkning af Gonokokker, er *Substratets og Luftens Fugtighed*.

Selve Substraternes Vandindhold har været Genstand for megen Uenighed. *Mc. Cann, Van Saun, Jenkins* og *Cole & Lloyd* anbefalede saaledes at anvende meget fugtige Substrater, medens bl. a. *Hall* slog til Lyd for de tørre. De meget fugtige — og derved meget bløde Substrater er jo i sig selv ugunstige som Arbejdssubstrater, og i det hele er det mit Indtryk, at *Martin* kom Sandheden nærmest, da han i 1911 skrev: »*too moist and too dry is a fault*«.

Fra forskellig Side har man ogsaa tilskrevet *Luftens Mætning med Vanddamp* stor Indflydelse paa Udviklingen af Gonokokker, og i Modsætning til det lige omtalte Krav om Fugtighed i selve Substratet, mener ogsaa jeg at maatte tilkende Vanddampene en meget stor Betydning.

Hvor meget de i og for sig betyder for den primære Udvikling af Gonokokkerne, tør jeg i Øjeblikket ikke udtale mig om, da jeg, som Følge af de før nævnte Modifikationer i Dyrkningsteknikken allerede uden Hensyn til Atmosfærens Vandindhold, er naaet til en saa høj Vækstprocent, at en yderligere Forbedring kun vil kunne bedømmes ud fra et langt større Materiale end det, jeg hidtil har samlet.

Men overfor de ældre Kulturers Levedygtighed er denne Faktor af essentiel Betydning.

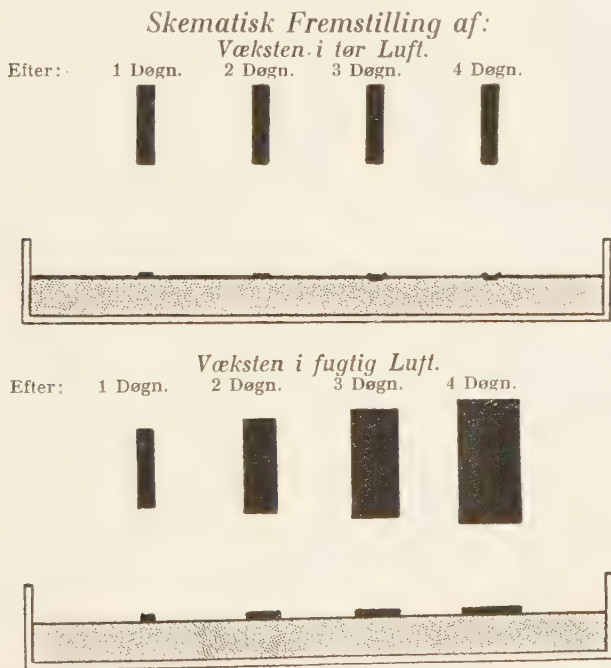
De 2 første Aar, i hvilke jeg beskæftigede mig med Gonokokundersøgelser, blev samtlige Stamkulturer omsaaet daglig, thi allerede paa 2. Døgn var Kulturerne saa slimede og sejge, at de næsten ikke lod sig fjerne fra Substratet, og saa svækkede, at man ved Omsaaning ikke kunde opnaa en sammenflydende Kultur, men kun fik Vækst af enkelte, spredtliggende Kolonier. Paa 3. Døgn var der en hel Del af Stammerne (navnlig af *Type III*), som overhovedet ikke gav Vækst ved Omsaaning.

Anderledes blev det imidlertid ved Dyrkning i fugtig Luft. Jeg anvendte hertil en almindelig emaillet Spand med tæt-sluttende Laag. Spanden anbragtes i Termostaten med lidt Vand i Bunden, og paa et Stativ anbragtes Kulturskaalene (Petriskaale) omtrent midt i Spanden.

Under disse Forhold holdt alle Stammer sig paa Ascitesagar fuldt levende i 8 Dage. Det stærkt slimede og sejge svandt ganske fra Kulturerne. Den lange Levedygtighed stod antagelig i Forbindelse med:

- 1) at Kulturerne ligesom »flyder ud« over det fugtige Substrat og
- 2) at Temperaturen i Spanden ved Fordampningen nedsættes ca. 1^o.5, altsaa til en for Gonokokvækst særdeles gunstig Temperatur af knap 36^o.

Følger man Gonokokkulturernes Udvikling paa Agarfladen, tager den sig omtrent saaledes ud:



De skematiserede Figurer viser, hvorledes Kulturen i den fugtige Luft »kravler ud« over Substratet. Dette har antagelig til Følge, at de yderstliggende Kim stadig faar tilført friskt Næringsstof og at de samtidig fjærnes fra de ældre, autolyserede Kim, der i nogen Grad virker hæmmende paa Væksten.

Denne Hæmning søgte jeg at vise ved at hælde et vandigt Autolysat af Gonokokker ud over en Ascitesagarskaal og efter Indtørring af Autolysatet at tilsaa den, dels med en Gonokok af hver Type, dels med en Meningokok af Type A. I Sammenligning med Væksten paa en Kontrolskaal var der en tydelig Væksthæmning af *alle* Gonokokker — ikke særlig af den Type, hvormed Autolysatet var fremstillet, men ingen Hæmning af Meningokokvæksten.

Siden Indførelsen af denne Dyrkning i fugtig Luft har en ugentlig Omsaaning (paa Ascitesagar) været fuldt tilstrækkelig til at holde Stamkulturerne vedlige, men da man saa, for nogenlunde at være sikret mod Overvækst af fremmede Kim som *bac. subtilis* eller *bac. proteus*, maatte vedligeholde Kulturerne i 2 Sæt (paa 2 Petriskaale), har jeg foretrukket Omsaaning af et enkelt Sæt 2 Gange ugentlig.

Intet er til Hinder for, at Kulturerne indenfor den omtalte Periode paa 8 Dage stadig henstaar i Termostaten, men af praktiske Grunde (Tilsyn med Kulturerne) har jeg som Regel haft den staaende ved Stuetemperatur om Dagen. I Mod-sætning til *Ferd. Wulff*, der anbefalede Opbevaring af Meningokokker i Iskælder, er det mit absolutte Indtryk, at den lave Temperatur snarest forkorter Gonokokkernes Levetid. At Stuetemperatur derimod i nogen Grad kan virke gunstigt ved at nedsætte Udviklingshastigheden og derved hindre en alt for voldsom Vækst, tør jeg dog ikke benægte.

Ad andre Veje end de hidtil omtalte har det ikke været muligt at skille Gonokoktyperne ud fra hinanden.

Rent morfologisk kan man selvfølgelig ikke skelne den ene Type fra den anden, saa meget mindre, som Formen ændrer sig under visse Forhold. Vi har allerede tidligere berørt dette for Døtrekoloniers Vedkommende.

Forgæringsforholdene er ligeledes ens for alle Typerne.

Undersøgelserne over Præcipation har for mig, som for alle andre der har prøvet dem overfor Gonokokker, givet saa ukonstante Resultater, at disse Reaktioner maa anses for ubrugelige til systematiske Arbejder med den paagældende Mikrob.

Endelig provede jeg Bakteriotropinbestemmelser med de monovalente Typesera.

Det viste sig imidlertid snart, at Gonokokkerne underkastedes en saa hastig og saa stærk Spontanfagocytose, at det var umuligt at konstatere en yderligere Virkning af Immunesera. En Typebestemmelse ad den Vej var derfor udelukket, men Undersøgelserne over Fagocytosen førte mig ind paa et lille Experiment, som jeg gentagne Gange siden har haft Glæde af under mit Arbejde med Gonokokkerne, og som jeg derfor til Slut skal omtale i Korthed.

Det drejer sig om en

Methode til Rensning af en Gonokokkultur,

der er blevet forurennet med Gram-positive Kokker eller med andre, stærkt voksende Mikrober, som i Løbet af kort Tid vil kvæle Gonokokkerne.

Hverken gennem direkte Pladespredning eller gennem Spredning fra Saltvand, Bouillon, Ascites o. s. v. paa Ascitesagar, er det i Almindelighed lykkedes mig at befri en saadan »inficeret« Kultur for de stærkere voksende Kim, men — gennem Fagocytose.

»Rensningen« udføres paa følgende Maade:

- 1) Blandingskulturen opslemmes i Ascitesbouillon.
- 2) Der tilsættes Leukocyter (fremkaldt ved intraperitoneal Injektion af Aleuronat paa Marsvin).

3) Efter 5 Minutters Henstand ved 37 ° er indtraadt en stærk Fagocytose, saa godt som udelukkende af Gonokokkerne, hvorfor Bouillonene centrifugeres og Leukocyterne udvaskes gentagne Gange.

4) De udvaskede (gonokokholdige) Leukocyter udsaaes paa Ascitesagar og giver paany en Renkultur.

Til Slut skal i korte Træk omtales de udvidede Undersøgelser.

UDVIDEDE UNDERSØGELSER

I. *Materialet.*

I umiddelbar Tilslutning til de allerede omtalte Typebestemmelser undersøgtes ialt 123 Stammer, og da der siden fra Tid til anden er typebestemt enkelte Stammer, naar det samlede Antal af Undersøgelser op omkring Tallet 200.

Forretningsgangen ved Indsamling af Materialet har været følgende:

Til de venerologiske Poliklinikker og Hospitalsafdelinger udsendtes smaa Petriskaale (ca. 14 cm. i Diameter) med frisk tilberedt Ascitesagar, som de behandlende Læger tilsaaede og hensatte i Termostat paa Klinikken eller omgaaende returnerede til Laboratoriet, hvor Skaalene straks sættes i Termostat (fugtig Luft!). En Del Patienter mødte direkte hos mig af Hensyn til Fremstilling af Autovaccine. Som nævnt forsøgte desuden i den sidste Tid, og med godt Resultat, at forsende Sekret i Ascitesbouillon i smaa sterile Reagensglas.

I Modsætning til det tidligere omtalte Materiale, som næsten udelukkende hidrørte fra Mænd, fandtes blandt disse Stammer 18 hidrørende fra voksne Kvinder og 17 fra Smaapiger, heraf 2 fra Børn med Oftalmoblenorrhoe.

Typebestemmelserne blev foretaget dels efter den tidligere beskrevne Absorptions-Komplementbindingsteknik, dels ved direkte Komplementbinding i »rensede« Sera.

Jeg skal indskrænke mig til at fremstille Fordelingen af Stammerne indenfor Typerne paa omstaaende Skema:

	Mænd	Kvinder	Børn	
Rene Stammer:			<i>Vulvovaginit.</i>	<i>Oftalmobl.</i>
Type I	4	—	—	—
— II	21	4	—	—
— III	18	10	13	2
Blandede Stammer:				
Type I-II	5	—	—	—
— I-III	1	—	—	—
— II-III	31	2	2	—
— I-II-III	1	—	—	—
Udenfor Typerne:	7	2	—	—
	88	18	15	2

Resultaterne svarer jo i det store og hele til, hvad der er fremgaaet af de tidligere Undersøgelser.

Atter ses *Type I* Stammerne ret svagt repræsenteret i Sammenligning med *Typerne II* og *III*, og atter findes enkelte Stammer, der ikke lader sig henhøre til nogen af de 3 Typer.

De 9 »løse« Stammer blev prøvet dels i de tidligere omtalte Sera E^1 og X^1 og dels i enkelte andre Sera, med Udvalg af en vilkaarlig Stamme blandt de 9 som »Type«-Stamme. Det viste sig umuligt at samle disse Stammer omkring en fælles Antigenbygning, men i Lighed med Forholdet ved Pneumokokkerne har jeg samlet dem i en Gruppe, kaldet *Type IV*.

Med dette Materiale har vi saa naaet Hovedformaalet med disse Undersøgelser: at konstatere Tilstedeværelsen af 3 serologisk ret skarpt adskilte Gonokokgrupper, *Typerne I, II og III*, med Overgangstyper (Tvetyper, Tretyper), og en mindre Samlegruppe: *Type IV*.

II. Patientsera.

Det var Undersøgelser over Antistofdannelsen i Blodet hos gonokokinficerede Patienter, der oprindeligt ledte ind paa Ty-

pearbejderne, og med de Erfaringer, som er høstet, vender vi nu tilbage til Udgangspunktet.

Ud fra den Kendsgerning at der fandtes Gonokok-Immunistoffer, der ikke lod sig binde til en hvilken som helst Gonokokstammes Antigen, vil det erindres, at der til de tidligere omtalte Undersøgelser af Patientsera anvendtes polyvalent Antigen. (Se S. 32).

Nu kender vi imidlertid Antigenmulighederne, og efter den ret sparsomme Forekomst af *Type I* Stammer kan man selvfølgelig ikke være sikker paa, at ogsaa denne Type har været repræsenteret i det tidligere anvendte polyvalente Antigen, selv om det var samlet af 8 Stammer.

Saafermt Patientsera kun indeholdt *typepræget* Antistof, var der altsaa en Mulighed for, at nogle — om ogsaa kun faa — positive Reaktioner vilde være faldet negativt ud.

I Stedet for det polyvalente Antigen anvendtes nu monovalente Typeantigener, og samtlige Patientsera provedes overfor alle 3 Antigener.

Det viste sig snart, at »specifikke« Sera (i den tidligere omtalte Betydning) var der ikke Tale om for Patienternes Vedkommende.

For det første var det kun ca. 25 % af de undersøgte Patientsera, der overhovedet gav positiv Reaktion, og for det andet reagerede de positive Sera *altid* og *kraftigst* med Antigen af *Type I*.

Jeg undersøgte 46 Patientsera, hvoraf følgende 12 var positive:

Antigen:	Type I (f.)	Type II (v.)	Type III (t.)
1	0. 0. 20.100. —	0. 0. 60.100. —	0. 20.100. — —
2	0. 10.100. — —	10. 40.100. — —	40. 80.100. — —
3	0. 0. 0. 20.100	0. 0. 0. 20.100	0. 0. 40.100. —
4	60.100. — — —	70.100. — — —	100. — — — —
5	40.100. — — —	100. — — — —	100. — — — —
Serum:6	0. 0. 80.100. —	0. 0. 80.100. —	0. 20.100. — —
7	40.100. — — —	40.100. — — —	100. — — — —
8	0. 0. 0. 10.100	0. 0. 0. 40.100	0. 0. 10. 60.100
9	0. 0. 20.100. —	0. 10. 40.100. —	20.100. — — —
10	40.100. — — —	60.100. — — —	60.100. — — —
11	0. 20.100. — —	20.100. — — —	40.100. — — —
12	60.100. — — —	100. — — — —	100. — — — —

Alle Kontroller: 100

Patientsera er udtitreret i følgende Doser:

0.02 0.01 0.(0)05 0.(0)025 0.(0)01.

Samtlige Sera gav negativ Wassermann Reaktion.

Af disse 12 positivt reagerende Patientsera viste de 9 sig at hidrøre fra Patienter med komplicerede Infektioner (Urethritis posteriores, Arthroiter, kronisk recidiverende Betændelser og Salpingiter). De 3 Sera (Patient 2, 5, 11) stammede fra letforløbende Infektioner, men da disse Patienter gentagne Gange tidligere havde haft Gonokokinfektioner, maa Antistofferne i disse Tilfælde muligvis tilskrives en »Sensibilisering« af antistofproducerende Celler som Følge af de tidligere Infektioner, saaledes som det er omtalt i det foregaaende.

34 Patientsera viste intet Antistof. De 32 af disse stammede fra let forløbende Infektioner (hvoriblandt ganske vist flere Patienter, som havde været under Behandling tidligere for lignende Infektion), og 2 var komplicerede, begge endda med Arthroiter og Epididymitis.

I 7 af de 12 positivt reagerende Tilfælde blev Patientens Infektionstype bestemt, og i intet Tilfælde var den af Type I, saa ejendommeligt er det, at Antistofferne i alle Tilfælde reagerede kraftigst overfor Antigen af denne Type.

I Tilslutning til Undersøgelserne over Antistoffernes Optræden under Infektion gjorde jeg en Del Undersøgelser over Antistoffernes Tilstedeværelse efter Vaccinebehandling.

Resultaterne deraf er offentliggjort ved tidligere Lejlighed og skal derfor kun her resumeres i korte Træk:

Hos sunde Individer lykkes det ikke at fremkalde paavise-
lige Antistoffer med de almindeligt anvendte therapeutiske
Vaccinedoser (0.5—1.0—1.5 cm³ »Standard 10«).

Hos gonokokinficerede Patienter lader Antistof sig paavise
i ca. 60 % efter Vaccinebehandling. Komplementbindingsre-
aktionen er altid stærkest overfor Antigen af *Type I*, altsaa
ogsaa i Tilfælde, hvor *Type II* eller *III* er anvendt til Vacci-
nens Fremstilling. *Type I* Vaccine giver kraftigst og *Type III*
Vaccine svagest Antistofdannelse. Jeg skulde tro, at en *Type I*
Vaccine altid bør foretrækkes for en Autovaccine af anden
Type, thi — man synes at kunne spore nogen Overensstem-
melse mellem Vaccinens »antigene« Evne og dens therapeuti-
ske Virkning.

SLUTNING

Det kliniske Forløbs Afhængighed af Gonokoktypen.

Naar jeg til Slut skulde udtale mig om det Punkt, der vel
nok ligger Klinikeren mest paa Hjerte som Resultat af Un-
dersøgelserne, nemlig det kliniske Billedes Afhængighed af
Typen, saa maa jeg tilstaa, at noget klart Billede af dette For-
hold er jeg ikke naaet til. Jeg tilskriver det forskellige Om-
stændigheder, dels den, at foruden de rent individuelle Re-
sistensforskelligheder saa mange ydre Forhold influerer paa
Forløbet af Gonokokinfektionerne, dels den, at Behandlingen
har varieret saa meget i de enkelte Tilfælde, og — om der i
det hele taget findes noget absolut Afhængighedsforhold, er
vel tvivlsomt.

Mit Materiale er hentet fra alle Samfundslag, velstillede

og ubemidlede, stillesiddende Arbejdere (Kontorfolk o. s. v.) og Kropsarbejdere (Haandværkere, Bude o. lign.). Allerede disse saa forskellige Livsvilkaar har jo deres Indflydelse paa Prognosen, og naar dertil kommer, at en Del Patienter blev behandlet med lokale Antiseptika, andre med interne Midler og atter andre med Vaccine, vil det forstaas, at alle disse Forhold, yderligere kompliceret gennem Virkningen af en eller maaske flere tidligere Infektioner, næsten umuliggør en Sammenligning af det kliniske Forløb i de enkelte Tilfælde.

I 1921 fremkom som nævnt — fra tysk Side — et Arbejde af K. W. Jøtten: »*Beziehungen verschiedener Gonokokkenarten zur Schwere der Infektion*«, en Undersøgelsesrække, hvori Forfatteren ved direkte Agglutination mente at kunne dele 27 Gonokokstammer i 4 Grupper (A. B. C. D.) og nogle »løse« Stammer udenfor Typerne.

De 2 Grupper A og B viste sig langt mere toxiske for Mus end de øvrige Grupper, de viste sig desuden at være langt mere resistente ved Bakteriotropinforsøg a. m. *Neufeld* og overfor baktericide Stoffer, og de medførte hos *alle* Patienterne et kompliceret og langvarigt Forløb af Infektionen. Indenfor Gruppe C og D fandtes derimod kun ganske faa komplicerede Infektioner.

Jeg maa tilstaa, at saa smukke Resultater har jeg ikke kunnet konstatere, men Muligheden for en Sammenhæng mellem Typepræg og klinisk Forløb tør jeg dog langt fra benægte. Museforsøgene har jeg gentaget, uden at det lykkedes mig paa disse Dyr at paavise saa konstante toxiske Forskeligheder mellem Typerne, som jeg tidligere havde iagttaget det hos Kaninerne, — mine Fagocytoseforsøg viste som nævnt ingen Forskeligheder mellem Typerne, og hvad angaar Resistensforholdene, er mine Resultater desangaaende ligeledes omtalt i det foregaaende.

Tilbage staar Omtalen af det kliniske Forløb af Infektionen hos vore Patienter.

I langt de fleste Tilfælde af *Type I* Infektion har den behandlende Læge i Journalen noteret: »let forløbende«. I intet af disse Tilfælde er forefaldet metastatiske Komplikationer, og naar et enkelt har været ret langvarigt, bør dette maaske tilskrives helt andre Aarsager som Urethralslimhindens anatomiske Bygning o. lign. Infektionerne med *Type II* og *III* har snart været lette og snart sværere. De mest ondartede Infektioner synes dog oftest (selv relativt) at være faldet indenfor *Type III*.

Hvad her er anført maa ikke tages som noget absolut. Det er kun et løseligt Skøn, som jeg har dannet mig ved Gennemgang af Journalerne over de Patienter, hvis Type er bleven bestemt, og ved Konferencer med de behandlende Læger.

Endnu et Punkt har i denne Forbindelse Krav paa vor Opmærksomhed: Af foranstaaende Oversigtstabel (Side 156) vil det bemærkes, at samtlige Gonokokstammer, rendyrket fra Smaapiger med Vulvovaginitis, har været af *Type III* (den mest ondartede!). Antallet af disse Stammer er dog saa forholdsvis lille, at dette Fund maaske nærmest maa betragtes som en Tilfældighed (cfr. dog *Pearce's* Undersøgelser, Side 39). Det samme gælder Typefundet ved de 2 Oftalmoblennorrhøer.

Helt kan man altsaa ikke se bort fra Muligheden for en Samhørighed mellem Gonokoktype og klinisk Billede, men hvordan det nu end forholder sig med denne, saa synes der under alle Omstændigheder at blive den Uoverensstemmelse tilbage mellem *Jøttens* og mine Resultater, at den mest toksiske og mest resistente Gonokok i *hans* Materiale er den mest ondartede, i *mit* den mest godartede.

Om det drejer sig om en og samme Type er hidtil ikke afgjort, men den Omstændighed, at en Mikrob er toxisk for Mus, at den er resistent overfor baktericide Stoffer, og at den stiller mindre Krav til Udvikling in vitro, forekommer mig at være af ringere Betydning for dens eventuelle Virulensgrad end dens stærkere eller svagere »antigene« (antistofinciterende) Evne i Organismen.

INVESTIGATIONS ON GONOCOCCUS TYPES AND GONOCOCCUS IMMUNE-SERA

Summary.

After a brief historical review on the development of gonococcus investigations on the basis of bacteriological and serological studies, the author's own investigations into *the occurrence of complement-fixing antibodies in the blood of patients infected with gonococci* are recorded.

In accordance with several foreign authors I found positive reaction in some of these patients, negative in others, apparently quite independent of the clinical course of the infection. (The antigen used for the tests was polyvalent, that is to say mixed of from 8—10 gonococcus strains.)

Considerations as to the cause of these results led me to the supposition that the gonococcus, like the meningococcus and other bacterial species, should constitute a heterogenous family, comprising types with different »antigenic« (i. e. antibodyinciting) properties, and to persuade myself as to the correctness of this supposition, I collected, as a preliminary basis for the type investigations, 25 gonococcus strains. They were isolated in pure cultures on ascitic agar from as many cases of fresh urethritis in men.

(The strains were marked with the small letters of the alphabet. One or several immune-sera were prepared with

each strain, these being denoted by the corresponding capitals. In cases where several sera were prepared from one strain, a figure was added to the letter denoting the serum, indicating the serial number of the serum concerned.)

For immunisation were employed rabbits exclusively whose sera prior to commencement of immunisation were tested for content of normal agglutinins and normal amboceptors against gonococci, and for spontaneous complement fixing action in the hæmolytic system. If the serum proved to possess any such properties, the rabbit in question was inapplicable for these investigations.

After an average of 4 intravenous injections of antigen at about 5 days' intervals, most of the rabbit sera showed a »titre« suitable for the studies.

By »titre« we understand (*Th. Madsen & Jørgensen*) the reciprocal value of the »titre dose«, which is the minimum volume of serum (containing »antibody-unit«) that produces total reaction. The »titre« is calculated per 1 cc of test volume, both in agglutination and complement-fixation tests.

These my investigations soon corroborated what *Torrey* wrote as early as 1907 on immunisation of rabbits against gonococci: that *the immunisation has a highly varying course with different strains*. Some sera rapidly attained their maximum titre, at which they remained standing in spite of continued injections, others rose slowly, while others again quickly went down. It proved that the gonococci, to a greater extent than the rabbits, were responsible for these relations, since *some strains of gonococci, when injected into a series of rabbits, produced constantly more valent immune sera than other strains*. Moreover, it proved that *the strains which produced the most vigorous antigenic action were, at the same time, most toxic for the rabbits*.

After the demonstration of these peculiar essential characters in the gonococcus strains, I set out to undertake a more thorough

investigation of the immune-sera prepared, first of their total content of immune bodies (agglutinins and complement-fixing antibodies), and afterwards of their finer composition by means of differentiation of the »partial antibodies«.

As for the technique applied in *direct* agglutination tests see Table on p. 44.

As for the technique applied in *direct* complement-fixation tests see Table on p. 50.

As representatives of the sera prepared, the tests performed with D¹, F¹ and K¹, are stated.

The *direct* agglutination tests are given in pp. 45—48.

The agglutination values are denoted by following signs:

++	= vigorous, (total) reaction.	
+	= mean	—
(+)	= weak	—
—	= no	—

The corresponding complement-fixation tests are given on pp. 51—52, read off by means of *Th. Madsen's* hæmolytic scale:

0 = complete inhibition of hæmolysis (total reaction).

100 = total hæmolysis (no reaction).

Intermediate figures give the percentage of hæmolysis.

(The fine correspondence of the results is noticeable.)

In Serum D¹ all the gonococcus strains show almost equally strong reactions. Sera producing this picture (in the *direct* test) are therefore called *»unspecific«*. From similar reasons, sera giving a picture like F¹, are called *»specific«*, and the third serum K¹, which is seen to give weaker reac-

tion with homologous strain than with several of the heterologous strains, represents the group of the author's so-called »*reversed specific*« sera.

The further differentiation of the antibodies is done by

absorption tests.

For absorption of agglutinin the technique worked out by English investigators (for typing of meningococci), has been employed. See tests on pp. 56—66.

(O_a² denotes serum O² absorbed with strain a.)

Noticeable is:

As for *Serum O²*: the agglutinin is completely removed by the homologous strain and by some few other strains.

Serum A¹: agglutinin completely removed by all gonococcus strains.

Serum F¹: agglutinin absorbed by the strains only which react directly to the antibodies present.

Serum J¹: agglutinin content cannot be completely removed by one single strain, — not even by the homologous one.

These experiments seem to indicate the presence of a heterogeneous content of antibodies in our immune-sera.

Serum A¹ must be the least complicated in composition, containing *one kind of antibodies only (race-antibody)*, which are absorbed by all strains of gonococci.

[*race-antibody* = red standard.]

[Antigens = full coloured standards.]

[Antibodies = scratched standards.]

(The next serum prepared with strain a, *Serum A²*, did however show identical reactions to those of the following Serum O².)

Serum O² must contain *two kinds of antibodies in the least*: besides the one common to the whole species (*race-antibody*), another antibody (*strain-(type?)-antibody*) with which the strain homologous to the serum only, and some few other

strains, react, and which can be absorbed by these strains only.

[strain (o- (type II))-antibody = yellow standard.]

Serum F¹ contains almost exclusively strain (f-(type I))-antibody [green standard] and Serum J¹ finally, contains race-antibody and besides various strain (j-(type III))-antibodies of which some — not all — react directly with (and can be absorbed by) the strain homologous to the serum.

[strain (j-(type III))-antibody = blue standard.]

The results of the investigations into the immune body content of the sera are collected in the Figure on p. 66.

That the organism should produce antibodies to which the immunizing antigen lacks the corresponding receptors (cfr. serum J¹ and strain j) is scarcely reasonable to suppose. We must therefore assume, either that the partial-antigen in question is found in so low a concentration as not to be demonstrable by absorption, or — what is perhaps more probable — that it possesses so weak avidity as just to be able to produce antibodies, but not to fix same to such a degree that they can be removed together with the antigen by absorption and centrifugation.

The converse relation, that a distinctly demonstrable partial-antigen possessing full reactive power is unable to induce the formation of antibodies or, at any rate, produces antibodies of a very weak avidity only, I have encountered repeatedly. [cfr. serum F¹ (containing no race-antibody) and strain f (which must contain race-antigen since it completely removes the agglutinins from Serum A¹)].

These relations, illustrated by coloured standards, are dealt with on pp. 69—71.

The results of the investigations into immune-sera are comprised in the following 7 points:

- 1) *Some gonococcus strains produce more valent immune-sera than others.*
- 1) *These gonococcus strains, (mentioned under point 1), produce the most »specific« sera.*
- 3) *The antibody content varies in monovalent immune-sera prepared with one and same strain, so that the antibody content of a serum cannot serve as guide for the understanding of the antigen composition of the homologous strain, — or vice versa.*
- 4) *Some »unspecific« sera, such as contain race-antibody only, are inapplicable for type differentiation.*
- 5) *The direct reaction of various gonococcus strains in »unspecific« sera do not permit of our drawing any conclusions as regards a closer or more distant relationship between the strains concerned.*
- 6) *Such a direct reaction in a »reversed specific« serum will be misleading.*
- 7) *Absorption in sera adapted to the purpose, only, can give information as regards correspondence in composition of antigen — i. e. as regards types of gonococci.*

On pp. 73—77 are given the orientating investigations into the possibility of combining the absorption test with complement-fixation tests. (The fine correspondence with the agglutination tests, and the consistent results obtained by the complement-fixation technique, are noteworthy.) These results are instrumental in our deciding for the application of the latter test for type differentiation.

The author's technique for type determination.

The titre of the serum is determined by a direct complement-fixation test with the strain homologous to the serum as antigen.

If the titre be for instance 2500, the serum will thus give a reaction as the following:

	<i>(Serum $\frac{\Delta}{10}$ ∴ in dilution $\frac{1}{10}$)</i>					
Serumdilutions :	$\frac{1}{12.5 (\times 10)}$	$\frac{1}{25 (\times 10)}$	$\frac{1}{50 (\times 10)}$	$\frac{1}{125 (\times 10)}$	$\frac{1}{250 (\times 10)}$	$\frac{1}{500 (\times 10)}$
$\frac{\Delta}{10} - \Phi :$	0	0	0	0	20	100
	Serum-control.		Antigen-control.			
	$\frac{1}{12.5 (\times 10)}$					
	100		100			

Now, in order to obtain a reliable and complete absorption with a given dose of antigen (determined by density of suspension) the number of »antibody units« per 1 cc of serum dilution should, — as shown in preceding investigations — be < 125 . Therefore, the serum is further diluted with equal parts of physiological salt solution, and we have a serum of the desired concentration, that is with the following power of fixation.

	<i>(Serum $\frac{\Delta}{20}$ ∴ in dilution $\frac{1}{20}$)</i>				
Serumdilutions :	$\frac{1}{12.5(\times 20)}$	$\frac{1}{25(\times 20)}$	$\frac{1}{50(\times 20)}$	$\frac{1}{125(\times 20)}$	$\frac{1}{250(\times 20)}$
$\frac{\Delta}{20} - \Phi :$	0	0	0	20	100
	Serum-control.	Antigen-control.			
	$\frac{1}{12.5(\times 20)}$	—			
	100	100			

In a series of minute test tubes portions of 0.25 cc. of this serum concentration are measured off. In the first tube a 16-hour culture of serum's homologous strain is suspended in a density as »Standard 6« (1 cc. of »Standard 6«, contains about 3600 million cocci).*) In the second, third, and fourth

*) »Standard 7« has half the density of »Standard 6«, »Standard 8« half of »Standard 7« and so on.

tubes, the strains of gonococci whose absorption power it is desired to test, are suspended, likewise in a density as »Standard 6«; and so on. (The growth from an ascitic agar surface area of about the size of a shilling will give a suitable suspension density).

No antigen is added to the last tube in the series. (Titration of the serum from this tube yields the necessary guarantee that the non-absorbed serum contains an appropriate number of »antibody units« against the homologous strain.

The tubes are now allowed to stand $\frac{3}{4}$ of an hour at room temperature, and afterwards $\frac{3}{4}$ of an hour in oil bath at 56° . By this means, the cultures suspended in the serum will be killed simultaneously with the occurrence of the fixation.

The tubes are now vigorously centrifuged, and the clear absorbed serum (serum from which absorption has taken place) removed from the antigen.

Each absorbed serum, as well as the non-absorbed serum, is now pipetted off in 3 doses (0.04 — 0.02 — 0.01 cc.) to which are added complement: 0.1 cc. per tube (containing $1.5 \times$ titre dose) — and antigen homologous to the serum: 0.2 cc. (»Standard 10«) per tube. The test is again allowed to stand for fixation, $\frac{3}{4}$ of an hour at room temperature, and $\frac{3}{4}$ of an hour in water bath at 37° . The »sensitized blood«, 0.2 cc. per tube (containing equal parts of 5 % sheep-blood-corpuscles and amboceptor dilution with about $3 \times$ amboceptor titre) is now added, and in the course of another half hour's standing at 37° the hæmolytic reaction will take place and — the test is ready to be read off.

The following controls are required in the absorption tests:

- 1) *Control with the absorbing strain as antigen instead of serum's homologous strain.* (As guarantee against a deficient absorption).

- 2) *Serum control* — with physiological salt solution instead of antigen. (As guarantee against spontaneous complement-fixation on the part of the serum).
 - 3) *Antigen control* — without serum (guarantee against spontaneous complement-fixation on the part of the antigen).
- All the controls should show complete hæmolysis, or at any rate nearly complete.

The first demonstrated absorption test (*Serum A¹*) (p. 85). shows:

- 1) that all gonococcus strains absorb the *race-antibody* completely; (this is known from previous investigations).
- 2) that meningococcus strains remove about half the *race-antibody*.
- 3) that other bacterial species absorb no demonstrable portion of this antibody.

In other words, this experiment shows that the species »meningococcus« is closely allied to the species »gonococcus«, and that what we term *race-antigen* and *-antibody* must not be conceived as »units« but as a combination of different parts (*partial-race-antibodies* and — *antigens*), of which some (about half) are common to the gonococcus and the meningococcus.

(A division into four sections of the red field in the following colour standards accompanying the Danish text, should indicate, that the *race-antigen* and *-antibody* consist of a number of minor parts (*partial-race-antigens* and *-antibodies*).

A selection from the test protocol (the absorption tests pp. 87—99) shows, then, how *the major part of the gonococcus strains can be arranged in three types (I, II and III)*. The results of all the experiments have been gathered in the Table on pp. 100a and 100b.

The following pages give a theoretically possible expla-

nation of the relationship (correspondence in composition) between type-strains, demonstrated by means of *colour-standards*, and founded on the basis of the experiences gained by the investigations into immune-sera.

2 of the 25 gonococcus strains could not be referred to any of the three types; the examination of them, mentioned on pp. 107—110, did however demonstrate some relationship of these strains to one of the types (*»atypical«* strains). And, just as it has previously been mentioned, that the fact that parts of the *race-antibody* for gonococci were absorbed by meningococci, compelled us to conceive this *race-antibody* as a combination of *partial-race-antibodies*, in the same way does the behaviour of these *»atypical«* strains compel us to regard the *type-antibody* and *-antigen* not as *»units«*, but as being constituted of minor parts. (cfr. the *colour-standards* p. 109).

The discussions concerning interrelationship between the type-strains led me into the question as to whether

a modification of the technique of investigation might possibly open new ways for attaining clearer results in the absorption tests, and thereby a better type differentiation.

As shown by the experiments given in pp. 112—115, this end was attained by modifying the experimental device so that, as a basis of type differentiation, the type-serum was combined with another strain than the homologous one (of course of the same type) as antigen. For, by this means, there was greater probability of having, as a basis for the differentiation, an antigen-antibody complex that contained *race-* and *type reagins* only, being void of possible individual *strain reagins*. (See *colour-standards* on p. 111.)

With this modification of the technique, I set to work at the typing of a larger material. The results of the in-

vestigation of the first 30 among these strains, are noted in the Table p. 124.

For a possible routine application this mode of proceedings for type determination was however as yet too laborious. My next efforts were therefore focussed on

the possibility of typing without the absorption test.

It will be recollected that type determination by direct complement-fixation was only possible in the »specific« serum (F^1), and attempts to produce such sera had failed except in this one case. Having the knowledge of the content of partial-antibodies in our immune-sera in mind, it seemed obvious to attempt a »purification« of type-sera by absorption with strains of other types, previous to applying the sera for type identification of an unknown strain (by direct reaction).

The experiments stated on p. 126 show the fine results obtained by employing »purified« sera.

The tests on p. 128 are based on the investigation into *the possibility of differentiating all three types by applying a »reversed specific« serum.* They prove that it is very easy to differentiate *type I* from *types II & III*, but that there is some difficulty involved in separating the two latter from one another.

The *colour-standards* in p. 129 are meant to illustrate the content of immune-bodies in the »reversed specific« serum, and the antibodies which remain in it after absorption with each of the three type-strains. (cfr. preceding experiment with Serum O^3). (As *types II* and *III* are difficult to differentiate, it must be supposed that these two types have part of the *partial-type-antibodies* in common) [*mixed yellow and blue scratching.*]

Finally, the whole impression derived from this work of

typing (of about 200 gonococcus strains) affords occasion for the following considerations:

Most gonococcus strains appear as monotypes; strains are however found among each of the three types which — as far as antigen composition is concerned — overlap one of the other types, in the case of one individual strain, either of the two other types even. And our immune-sera, too, show similar relations; all possible transitions are found, from the »specific« (mono-typed) serum, to the »reversed specific« (three-typed) serum.

We have encountered sera that contain antibodies against which the homologous strain, apparently, fails to possess antigen, just as we have found other sera which, apparently, do not possess the antibodies against which the homologous strain demonstrably contains antigen.

Should not these relationships be taken to indicate that the whole question of type differentiation may, after all, be regarded merely as a result of variance of avidity! That the one strain is in reality composed quite like the other, and that it is only the difference of avidity on the part of the type-reagins within the individual strain and serum which produces the »pictures« we interpret as three types«.

(See colour-standards p. 131).

At the end of the chapter are stated some *experiments for typing of gonococci in the gonococcus-containing pus from patients*, by employing the latter as antigen against a »*purified*« serum. The object of these experiments was to attempt how far it would be possible to type without pure cultivation of the gonococci — one of the greatest difficulties involved in these investigations.

Notwithstanding experimentation with different modes of preparation of the antigen (antiformin-extract, autolysate, sus-

pension in physiological salt solution, etc.), the method was deemed to be unreliable; pure cultivation is therefore indispensable, and the last chapter in the treatise contains some experiments for improving growing conditions for gonococci and, in addition to these, some investigations into the question as to whether gonococci can be differentiated into the same types on the basis of other biological characters than the serological ones.

In

cultivation experiments

with gonococci, I have repeatedly seen, that *type I strains are more tenacious of life on the artificial medium (ascitic agar) than type II & III strains.*

A supplementary experiment, mentioned on p. 137, shows that the germs of a gonococcus suspension of *type I* in physiological salt solution remain viable for a longer period than similar suspensions of *type II*, and more especially of *type III*.

From my studies on *the significance of the »hydrogen ion concentration«* for the growth of gonococci, it appears that the p_{H} reaction of the medium is of the very greatest importance (*the optimum p_{H} being 7.4 — 7.6*), but that the requirements are less as far as *type I* is concerned, than for the other types. (See experiments on p. 144).

Cultivation of gonococci at *»partial oxygen tension«*, which has been recommended from various sides, is briefly mentioned, and, in this connection, the not very glorious results I have personally attained by this method of cultivation. Likewise are mentioned my own experiences in regard to the *cultivation temperature* (which proved to be of *minor importance*) and to the modification of the *degree of moisture of the atmosphere*. Cultivation in moist air is of *essential importance*

for the development and viability of gonococcus cultures (see Figures on p. 151).

Some experiments for the demonstration of *type-bacteriotropins* failed, while *phagocytosis* experiments taught me a convenient *method for purification of a contaminated gonococcus culture* on account of the rapid spontaneous phagocytosis of these bacteria. Such a purification process had hitherto involved great difficulties, and often totally failed.

The purification is performed in the following manner:

- 1) The contaminated culture is suspended in ascitic broth.
- 2) Leucocytes are added (obtained from guinea-pigs about 6 hours subsequent to intraperitoneal injection of aleuro-nate).
- 3) After 5 minutes' standing at 37°, a vigorous phagocytosis of the gonococci has occurred; the broth is centrifuged and the leucocytes washed several times.
- 4) The washed leucocytes (containing gonococci) are disseminated on ascitic-agar, on which a pure culture will now grow.

The concluding chapter in the treatise is inaugurated with a schematic survey on the results of the typing of 123 strains, a survey which shows that also in a larger material are the strains, on the whole, classifiable within the 3 *types*. It is noticeable that 13 out of 15 small girls suffering from vulvovaginitis (and 2 children with ophthalmoblennorrhea) all harboured gonococci of *type III*.

Investigations for the purpose of demonstrating *type-antibodies in the serum of patients infected with gonococci* (i. e. »specific« sera), yielded negative results in so far as all the sera in which antibodies were demonstrable, reacted most vigorously against *type I* antigen.

In conclusion is stated, as my cursory impression, that

type I infection in most cases seems to give rise to a less severe clinical course than infection with either of the other two types. (I would feel inclined to associate this with the special power of the type concerned to incite the formation of antibodies). The dependence of the clinical picture on the type, seems to me however not to be so sharply pronounced as alleged from other sides.

LITTERATURFORTEGNELSE

- Abel: Deut. med. Woch. 1893. Bd. 11. S. 265. Vereinfachung der Methode zur Gonokokkenkultur.
- Alfvén, A.: Hygiæa. 1904. Bd. 6. Nr. 2. Gonokokdyrkning paa Thalmann's Agar.
- Altmann & Rauth: Zeitschr. f. Immunf. 1910. Bd. 7. S. 629. Experimentelle Studien über Erzeugung serologisch nachweisbarer Variationen beim *Bact. coli*.
- Altmann & Schultz: Zeitschr. f. Immunf. 1909. Bd. 3. S. 98. Verwendung von Bakterien-Antiformineksrakten als Antigene bei der Komplementbindung.
- de Amicis: Ref. Bosc: Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Arning: Arch. f. Derm. 1883.
- Aubert: Ref. Bosc: Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Baermann, G.: Zeitschr. f. Hyg. 1903. Bd. 43, S. 529. Über die Züchtung v. Gonokokken auf Thalmann'schen bzw. gewöhnlichen Fleischwasseragar- und Glycerinagar-Nährböden.
- Besredka, A. & Jupille, F.: Ann. de l'Inst. Pasteur. 1913. T. 27. Le bouillon a l'oeuf.
- Bockhart: Monatschr. f. prakt. Derm. 1886. Beiträge z. Kenntniss der Gonokokken.
- Bokai & Finkelstein: Allg. med. Zentralztg. 1880.
- Bouchard & Capitan: Ref. Bosc: Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Bordet, J.: Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. T. 13. Le mécanisme de l'agglutination.
- Bordet & Gengou: Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901. T. 15. Sur l'existence de substances sencibilatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens.
- Bosc, P.: Le gonocoque. Thèse de Montpellier. 1893.
- Brongersma, S. H. & Van de Velde, Th.: Zentralbl. f. Bakt. 1903. Bd. 33. S. 311. Die Züchtung v. Gonokokken auf »Thalmann-Agar«.
- Broughton-Allcock, W.: Journ. Path. & Bact. 1915. Vol. 19. S. 214. Studies of a strain of gonococcus on ordinary media.

- Browning, C. H. & Gilmour, W.: Journ. Path. & Bact. 1914. Bd. 18. S. 144. *Bactericidal action and chemical constitution with special reference to basic benzol derivatives.*
- Bruck, C.: Kolle & Wassermann: Handb. d. pathog. Microorg. Bd. 4. *Immunität bei Gonorrhöe.*
- Bruck, C.: Deut. med. Woch. 1906. Nr. 34. S. 1368. *Ueber spezifische Diagnose von Infektionskrankheiten.*
- Bruck, C.: Deut. med. Woch. 1906. Nr. 34. S. 1368. *Ueber spezifische Immunkörper gegen Gonococcen.*
- Bruck, C.: Deut. med. Woch. 1909. Nr. 11. S. 470. *Ueber spezifische Behandlung gonorrh. Prozesse.*
- Bruckner, J. & Cristéanu, C.: Compt. rend. Soc. Biol. 1906. S. 846. *Sur l'agglutination du gonocoque par un sérum spécifique.*
- Bumm, E.: *Der Mikroorganismus d. gonorrhöischen Schleimhaut-erkrankungen »Gonococcus Neisser«.* Wiesbaden. 1885.
- Buschke, A. & Langer, E.: Deut. med. Woch. 1921. Bd. 1. S. 65. *Ueber die Lebensdauer und anaerobe Züchtung d. Gonokokken.*
- Castellani, J.: Zeitschr. f. Hyg. 1902. Bd. 40. *Die Agglutination bei gemischter Infektion und die Diagnose der letzteren.*
- Chapin, J.: Journ. infect. dis. 1918. Vol. 23. S. 342. *Carbon dioxid in the primary cultivation of the gonococcus.*
- de Christmas, A.: Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897. T. 7. *Contribution a l'étude de gonocoque et de sa toxine.*
- Churchmann, J. W.: Journ. exper. Med. 1912. Vol. 16. S. 221. *The selective bactericidal action of stains closely allied to gentian violet.*
- Clark, G. W.: Journ. of Bact. 1920 Vol. 5. S. 99. *A modified procedure for the preparation of testicular infusion-agar.*
- Clark, G. M. & Lubs, H. A.: Journ. of Bact. 1917. Vol. 2. *The colorimetric determination of hydrogen ion concentration and its applications in bacteriology.*
- Colombo, G. L.: Zeitschr. f. Immunf. 1911. Bd. 9. S. 287. *Ueber die Komplementbindung als Prüfungsmethode der Meningokokken und Gonokokkenserum und die Spezifität ihrer Amboceptoren.*
- Cook & Stafford: Journ. infect. dis. 1921. Vol. 29. S. 561. *A study of the gonococ and the gonococcal infections.*
- Dembka: Dermat. Zeitschr. 1911. *Zur Frage der Serodiagnose und Vaccinetherapie bei der gynæk. Gonorrhoe.*
- Donné: *Cours de microscopie.* Paris 1844.
- Dopter & Kock: Compt. rend. Soc. Biol. 1908. S. 215. *Sur le coagulation du méningocoque et du gonocoque.*
- Drennan & Teague: Journ. med. Res. 1916. Bd. 35. S. 519.
- Dreyer, G., Kriegler, S. G. & Walker, E. W. A.: Journ. Path. & Bact. 1911. Vol. 15. S. 133. *The effect of certain dyes upon bacteria.*

- v. Dungern.: *Die Antikörpern*. Jena 1903.
- Durham: Journ. exper. Med. 1901, Vol. 5, S. 353. *Some theoretical considerations upon the nature of agglutinins together with further observations upon the bac. typh. etc.*
- Ecklund: Annal. d. Derm. et Syph. 1882.
- Ehrlich & Morgenroth: Berl. klin. Woch. 1900—01. *Ueber Hämolyse*.
- Eisenberg & Volk: Zeitschr. f. Hyg. 1902. Bd. 40, S. 155. *Untersuchungen über die Agglutination*.
- Eraud et Hugounenq: Ann. de dermat. et de syph. 1893. T. 4, p. 362. *Recherches bactériologiques et chimiques sur la pathogénie de l'orchite blennorrhagique*.
- Fehleisen: Ref. Bosc: Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Fey, H.: Zeitschr. f. Immunf. 1921. Bd. 33, S. 178. *Vergleichende Untersuchungen über Antikörperbildung bei Gonorrhöe*.
- Fildes, P. & Barker, S. L.: Medical Research Committee. Special Report Series. No. 17. 1918.
- Finger: Arch. f. Derm. und Syph. 1891. *Zur pathologischen Anatomie der Blennorrhagie der männlichen Sexualorgane*.
- Finkelstein, I. A. & Gerschun, T. M.: Practiczesky wratsch. 1912. Nr. 10. Ref. Fey. 1. c.
- Finger, Ghon, A. & Schlagenhauer: Arch. f. Derm. u. Syph. 1894. S. 3. *Beiträge zur Biologie der Gonokokken und zur pathologischen Anatomie der gonorrhöischen Prozessen*.
- Fournier: Ref. Dict. de Jaccoud. 1879. *Blennorrhagie*.
- Friedberger & Moreschi: Berl. klin. Woch. 1905. Bd. 45, S. 1409. *Ueber Rassendifferenzen von Typhusstämmen*.
- Fürbringer: Ref. Bosc: Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Gardner & Clowes: N. Y. med. Journ. 1912. S. 734. *The specific complement deviation reaction in gonorrhoea*.
- Gay, F. P. & Morrison, L. F.: Journ. infect. dis. 1921. Vol. 28, S. 1. *Experimental streptococcus empyema. II. Attempts at dye therapy*.
- Giovanni: Gionale ital. del mall. ven. e. del pel. 1886. *Die Mikroparasiten der urethralen Blennorrhoe des Menschen*.
- Gordon, H. M.: Medical Research Committee. Special Report Series No. 3. 1917.
- Gordon & Hine: Medical Research Committee. Special Report Series. No. 19. 1918. *The laboratory diagnosis of gonococcal infections*.
- Granville-Chabtree: Journ. infect. dis. 1914. Vol. 15, S. 309. *Observations on the growth of the gonococcus and the staphylococcus albus from the urethra in plate culture*.
- Gruber & Durham: Münch. med. Woch. 1896. Nr. 13. *Eine neue*

- Methode zur raschen Erkennung des Choleravibrios und des Typhusbacillus.*
- Hall: Journ. of Bact. 1916. Vol. 1. S. 343. *Testicular infusion-agar — a sterilisable culture medium for the gonococcus.*
- Hallier: Zeitschr. f. Parasitenkunde. 1872, T. 1. Ref. P. Bosc: Le gonocoque, Montpellier 1893.
- Heller: Charité Ann. 1896. *Ueber experimentelle Blennorrhoe im Auge neugeborener Kaninchen.*
- Henderson, L. J. & Webster, H. B.: Journ. med. res. 1907. Vol. 16. S. 1. *The preservation of neutrality in culture media with the aid of phosphates.*
- Hermanies, J.: Journ. infect. dis. 1921. Vol. 28. *Gonococcus types I.*
- Hermanies, J.: Journ. infect. dis. 1921. Vol. 31. *Gonococcus types II.*
- Herrold: Journ. amer. med. Assoc. 1920. Vol. 74. *A simplified plate method of partial oxygen tension in the cultivation of the gonococcus.*
- Herrold: Journ. amer. med. Assoc. 1921. Vol. 76. *Determination of cure in gonorrheal infection of the male.*
- Hirschfelder: Journ. amer. med. Assoc. 1914. Vol. 62. *A new culture medium for the gonococcus.*
- Horand & Peuch: Crivelli: *Nature et traitement dans la blennorrhagie.* 1886. Ref. Bosc: Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Irons, E. E. & Nicoll, H. K.: Journ. infect. dis. 1915. Vol. 16. S. 303. *Complement fixation in the diagnosis of gonococcal infections.*
- Jackstedt: Diss. Königsberg 1904. Ref. See: Le gonocoque. Paris 1896.
- Jenkins, C. E.: Journ. Path. & Bact. 1921. Vol. 24. No. 2. *Notes on cultivation of gonococcus.*
- Jenkins, C. E.: Journ. Path. & Bact. 1922. Vol. 25. S. 105. *Further note of the cultivation of the gonococcus.*
- Jousseume: *Des végétaux parasites de l'homme.* Thèse de Paris 1862. Ref. Bosc. Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Jundell: Hygiæa. 1900. Vol. 62. S. 604. *Experimentela och kliniska Undersökningar öfver Gonococcus Neisser.*
- Jundell & Åhman: Arch. f. Derm. & Syph. 1897. S. 59. *Ueber die Reinzüchtung des Gonococcus Neissers.*
- Jötten, K. W.: Zeitschr. f. Hyg. 1921. Bd. 92. S. 9. *Beziehungen verschiedener Gonokokkenarten zur Schwere der Infektion.*
- Jötten, K. W.: Inaug. Dissert. Leipzig. 1921.
- Kiefer, F.: Berl. klin. Woch. 1895. Bd. 15. S. 332. *Zur Kultur des Gonococcus Neissers.*
- Kiefer, F.: Berl. klin. Woch. 1896. Bd. 2. S. 628. *Zur Differentialdiagnose des Erregers der epidemischen Cerebrospinalmeningitis und der Gonorrhoe.*

- Kilduffe: Amer. Journ. med. sc. 1921, S. 578. *Laboratory aids in the diagnosis of gonococcal infections with special reference to the gonococ. complement fixation test.*
- Koch, J.: Kolle & Wassermann: Handb. d. pathog. Microorg. Bd. 4. *Die Gonorrhoe.*
- Kolmer, J. A. & Brown, C. P.: Journ. infect. dis. 1914. Vol. 15. S. 6. *Complement fixation in gonococcus infections.*
- Kreis: Wien med. Woch. 1885. Nr. 30. *Beiträge zur Kenntniss des Gonococcus.* Ref. Bosc. Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Krumweide, C. & Pratt, J. S.: Journ. exper. Med. 1913. Vol. 29. S. 20. *Observations on the growth of bacteria on media containing various anilin dyes.*
- Leistikow: Charité Ann. 7. Berlin 1882. *Ueber Bakterien bei den venerischen Krankheiten.*
- Lustgarten & Mannaberg: Vierteljahrschr. f. Derm. u. Syph. 1887. *Ueber die Mikroorganismen der normalen männlichen Urethra und des normalen Harnes u. s. w..*
- Madsen, Th.: Kraus & Levaditi: Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung. I. — *Allgemeines über bakterielle Antigene-Toxine u. s. w.* (S. 62.)
- Madsen, Th. & Jørgensen, A.: Festschrift v. Indvielsen af Statens Seruminstitut 1902. *The fate of typhoid and cholera agglutinins during active and passive immunisation.*
- Maitra: Indian Journ. med. Res. 1919 Vol. 7. S. 219. *Observations on the culturel methods of gonococcus.*
- Martin, W. B. M.: Journ. Path. and Bact. 1911. Vol. 15. S. 76. *The isolation of the gonococcus and its differentiation from allied organisms.*
- Mc. Clintock & Clark: Journ. infect. dis. 1909. Vol. 6. S. 217 *Autolysis of the gonococcus.*
- Meakins: Bull. Johns Hopkins Hosp. 1907. No. 18. *Method of fixation of complement in the diagnosis of meningococ and gonococ.*
- Menge: Centralbl. f. Gynæk. 1893. Bd. 17. S. 153. *Ein Beitrag zur Kultur des Gonococcus.*
- Merkurjew: Zeitschr. f. Immunf. 1911. Ref. *Die Serodiagnose der Gonorrhoe.*
- Moltschanoff: 1899. Ref. Torrey. Journ. med. res. 1907.
- Morax: Ann. de l'Inst. Pasteur. 1918. Vol. 32. p. 471. *A propos de la vitalité du gonocoque.*
- Müller, P. Th.: Arch. f. Hyg. 1908. Bd. 64. *Aviditätsstudien an Hämolysinen und Agglutininen.*
- Müller, R. & Oppenheim M.: Wien. klin. Woch. 1906. Bd. 19. S. 894. *Ueber den Nachweis von Antikörpern im Serum eines an Ar-*

- thritis gonorrhoeica Erkrankten mittels Komplementablenkung.*
 Neisser, A.: Centralbl. f. d. med. Wissenschaften, Juli 1879. Bd. 17.
 S. 497. *Ueber eine der Gonorrhoe eigentümliche Micrococcus-*
form.
- Neisser, A.: Deut. med. Woch. 1882—1889—1894.
- Neisser, M. & Sachs, H.: Berl. klin. Woch. 1905, Nr. 44. *Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes.*
- Neisser, M. & Sachs, H.: Berl. klin. Woch. 1906, Nr. 3. *Die forensische Blutdifferenzierung durch antihämolytische Wirkung.*
- Nencioni: Atti accadem. med. Fiorentina 1910. *Tentavi di fissazione del complement nella blenorreh.* Ref. Zeitschr. f. Immunf. 1921.
- Neufeld, F.: Arbeiten der Kais. Gesundheitsamte 1910. Bd. 33. S. 580. *Ueber den Einfluss der Normal- und Immunsera auf die Phagocytose.*
- Nicolaysen: Centralbl. f. Bakt. 1897. Bd. 22. S. 305. *Zur Pathogenität und Giftigkeit des Gonococcus.*
- Nicolle, Jouan & Debains: Ann. de l'Inst. Pasteur. 1919. S. 261. *Recherches sur les antigenes méningococciques et gonococciques.*
- Pearce, L.: Journ. exper. med. 1915. Vol. 21. *A comparison of adult and infant types of gonococci.*
- Picker: Wien. klin. Woch. 1906. Bd. 43. S. 1282. *Bakteriologische Studien über den Gonokokkus.*
- Ricord: Ref. Bosc. Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Rotmann: Russki Wratsch. 1905, Bd. 28. Ref. Monatshefte f. prakt. Derm. 1905, S. 516. *Zur Frage des Gonokokkenwuchses auf einfachem Fleischpeptonagar.*
- Rosenow, E. C.: Journ. infect. dis. 1914. Vol. 14. *Transmutations within the streptococcus- pneumococcus group.*
- Ruediger: Journ. infect. dis. 1919. Vol. 24. S. 376. *Exclusion of air in the cultivation of the gonococcus.*
- Sabouraud & Noiré: Ann. de Derm. et de Syph. 1913. p. 438. *Milieu rendant facile la culture de gonocoque.*
- Salisbury: Gaz. med. de Lyon. 1873. *De la présence d'une végétation algoïde dans la gonorrhoe.* Ref. Bosc. l. c.
- Scholtz: Arch. f. Derm. u. Syph. 1899. S. 3. *Beiträge zur Biologie des Gonococcus.*
- Schwartz & Mc. Neil: Amer. Journ. med. Sc. 1912. Vol. 141. S. 693. *The complement fixation test in the diagnosis of gonococcic-infections.*
- Schwartz & Mc. Neil: Amer. Journ. med. Sc. 1912, Vol. 144. *Further experiences with the complement fixation test in the diagnosis of gonococcus infections of the genito-urinary tract in the male and female.*
- See, Marcel: *Le gonocoque.* Thèse de Paris. 1896.

- See, Marcel: Ann. de Derm. et de Syph. 1900. Vol. 31. p. 889. *Culture de gonocoque sur le sang gélose de Bezançon-Griffon.*
- Smith & Wilson: Journ. Immun. 1920. Vol. 5. S. 499. *Comparison of smear culture and complement fixation in chronic gonorrhoea in women.*
- Steinschneider: Berl. klin. Woch. 1890. Nr. 24. *Zur Differenzierung der Gonokokken.*
- Steinschneider: Berl. klin. Woch. 1897. S. 379. *Eidotteragar, ein Gonokokken-Nährboden.*
- Stanziale, R.: Centralbl. f. Bakt. 1906. Bd. 42. *Die Bakterien der Harnröhre unter normalen Verhältnissen und bei Gonorrhoe.*
- Sternberg: Med. News. 1883. *The microorganism of the gonorrheal pus.*
- Stross, O.: Centralbl. f. Bakt. 1905. Bd. 38. S. 491. *Wachstum der Gonokokken auf serumhaltige Nährböden.*
- Sørensen, S. P. L.: Biochem. Zeitschr. 1909. Bd. 21. S. 1. *Enzymstudien II.*
- Swartz & Davis: Journ. amer. med. Assoc. 1920. Vol. 75. No. 17. *Methods of cultivating the gonococcus and of testing germicidal agents against it.*
- Teague, O. & Torrey, J. C.: Journ. med. Res. 1907. Vol. 17. S. 223. *A study of gonococcus by the method of fixation of complement.*
- Thalmann: Centralbl. f. Bakt. 1900. Bd. 27. *Züchtung der Gonokokken auf einfachen Nährböden.*
- Thalmann: Centralbl. f. Bakt. 1902. Bd. 31. *Zur Biologie der Gonokokken.*
- Thomsen, O.: Zeitschr. f. Immunf. 1910. Bd. 7. *Die quantitative Ausführung der Wassermannschen Reaktion.*
- Thomsen, O. & Vollmond, E.: Hospitalstidende 1920. *Forsøg paa Typeinddeling af Gonokokker.*
- Torrey, J. C.: Journ. med. Res. 1907. Vol. 16. Nr. 2. S. 329. *Agglutinins and Precipitins in anti-gonococcic Serum.*
- Torrey, J. C.: Journ. med. Res. 1908. S. 347. *A study of natural and acquired immunity of guinea-pigs to gonococci.*
- Turro: Centralbl. f. Bakt. 1894. *Gonokokzüchtung und künstliche Tripper.*
- Urbahn: Münch. med. Woch. 1903. Bd. 50. S. 1529. *Die Gonokokkenkultur und ihre diagnostische Bedeutung.*
- van Saun: Collected studies. Dep. of Health. N. Y. 1913. Nr. 7. S. 101. *Effects on variations in media on gonococci antigen.*
- Vannod, Th.: Deut. med. Woch. 1906. Nr. 49. S. 1984. *Ueber Agglutinine und spezifische Immunkörper in Gonokokkenserum.*
- Vannod, Th.: Centralbl. f. Bakt. 1907. Bd. 44. S. 10. *Contributions a l'étude du gonocoque.*

- Vannod, Th.: Centralbl. f. Bakt. 1905. Bd. 40. S. 162. *L'agar ordinaire comme milieu de culture du gonocoque.*
- Vedder: Journ. infect. dis. 1915. Vol. 16. S. 385. *Starch-Agar, a useful culture medium for the gonococcus.*
- Vines, H. W. C.: Journ. Path. and Bact. 1918—19. Vol. 22. S. 197. *Strains of meningococci hyper-sensitive to agglutination.*
- Vollmond, E.: Festschrift til Th. Rovsing. 1922. *Om Maaling af det komplementbindende Antistof som Vejledning ved Vaccinebehandling.*
- Warden, C. C.: Journ. infect. dis. 1913. Vol. 12. S. 93. *Studies on the gonococcus I.*
- Warden, C. C.: Journ. infect. dis. 1913. Vol. 13. S. 184. *The role of the staphylococcus in gonorrhoea. Studies on the gonococcus II.*
- Warren: Journ. Path. and Bact. 1921. S. 424. *Group agglutination of the gonococcus.*
- Wassermann, A.: Berl. klin. Woch. 1897. Nr. 32. S. 685. *Ueber Gonokokken-Cultur und Gonokokken-Gift.*
- Wassermann, A.: Zeitschr. f. Hyg. 1898. Bd. 27. *Weitere Mitteilungen ueber Gonokokkenkultur und -gift.*
- Wassermann, A.: Zeitschr. f. Hyg. 1903. Bd. 42. S. 267. *Ueber Agglutinine und Precipitine.*
- Wassermann & Bruck, C.: Deut. med. Woch. 1906. Nr. 12. S. 449. *Experimentelle Studien über die Wirkung v. T.B.-präparaten auf dem tuberkulös erkrankten Organismus.*
- Watabiki, T.: Journ. infect. dis. 1910. Vol. 7. S. 159. *A study of complement fixation in gonorrheal infections.*
- Watabiki, T.: Journ. infect. dis. 1916. Vol. 19. *Culture media for gonococcus.*
- Watabiki, T.: Journ. med. Res. 1909. Vol. 20. S. 365. *The behaviour of the gonococ in carbohydrate media.*
- Welander: Gaz. med. Paris 1884. *Quelques recherches sur les microbes path. de la blennorrh.* Ref. Bosc. Le gonocoque. Montpellier 1893.
- Weil, E. & Noir: Compt. rend. Soc. Biol. 1913. p. 1321. *Note sur un milieu de culture pour le gonocoque.*
- Wertheim, E.: Deut. med. Woch. 1891. Bd. 17. S. 1351. *Reinzüchtung der Gonokokken durch Plattenkultur.*
- Wherry, W. B. & Oliver, W. W.: Journ. infect. dis. 1916. Vol. 19. S. 288. *Adaptation to certain tensions of oxygen as shown by gonococcus and other parasitic and saprophytic bacteria.*
- Widal: Soc. med. des Hop. 1896. *Sérodiagnostic de la fièvre typhoide.* Ref. Kolle & Wassermann Handb. d. path. Microorg.
- Wildbolz, H.: Centralbl. f. Bakt. 1902. Bd. 31. S. 128. *Zur Biologie der Gonokokken.*

- Wildbolz, H.: Arch. f. Derm. und Syph. 1902. *Bakteriologische Studien über Gonokokkus Neisser.*
- Wollstein, M.: Journ. exper. med. 1907. Vol. 9. S. 588. *Biological relationships of diplococ. intracellular and gonococcus.*
- Wulff, Ferd.: *Undersøgelser over Meningokoktyper.* Kbhvn. 1921. Disp.
- Young: Journ. of cut. a. gen.-urin. dis. 1900. *The gonococcus.*
- Zeissl: *Traité clinique et thérapeutique des maladies vénériennes.* Paris 1888. Ref. See. Le gonocoque. Paris 1896.

